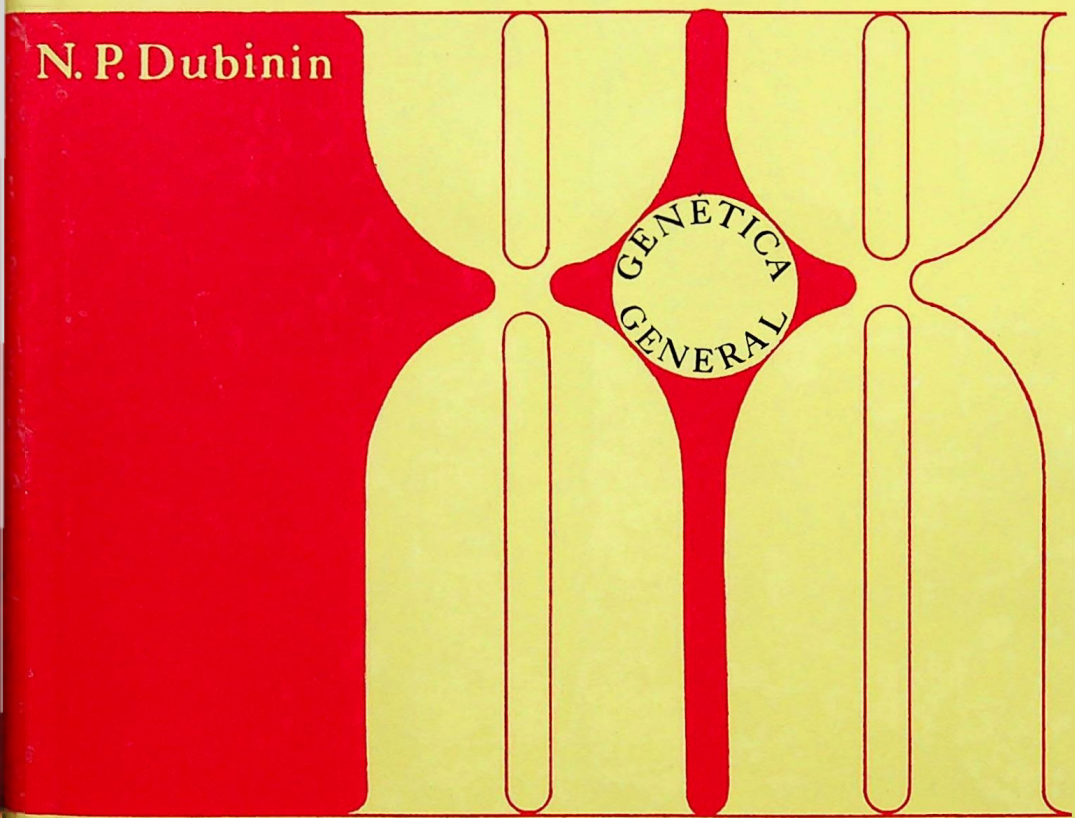
N. P. Dubinin



Editorial · MIR ·

Н. П. ДУБИНИН

ОБЩАЯ ГЕНЕТИКА

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

МОСКВА

N. P. DUBININ

GENÉTICA GENERAL

TOMO I

Segunda edición

Luis David López Mateos
31 - Diciembre - 1997

EDITORIAL MIR MOSCÚ

Traducido del ruso por J. Noemí Díaz Vilches

Impreso en la URSS.

Primera edición 1981

Segunda edición 1984

На испанском языке

© Издательство «Наука», 1976
© Traducción al español, Editorial Mir. 1981

INDICE

INTRODUCCIÓN 9.

I CÉLULA E INFORMACIÓN 15.

Herencia y variabilidad 15. El citoplasma de la célula 19. Cromosomas de los virus 20. Cromosomas de las bacterias y de las algas verdeazules 22. Episomas y plasmidas 22. Núcleo de la célula y cromosomas 23. Ciclo vital de la célula y mutosis 31. Fundamentos químicos de la herencia 37. Preguntas para discutir 43.

II AUTORREPRODUCCIÓN 45.

Fundamentos moleculares de la autorreproducción del material genético 45. Pruebas directas de la autorreproducción semiconservativa del DNA 51. Autorreproducción de los cromosomas en los organismos superiores 52. Preguntas para discutir 55.

III FUNDAMENTOS CROMOSÓMICOS DE LA CONSERVACIÓN Y RECOMBINACIONES DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA DURANTE LA REPRODUCCIÓN SEXUAL EN LAS FUCARIOTAS 56.

Meiosis 57. Alternancia de la haplofase y la diplofase en las plantas y los animales a diferentes niveles evolutivos 60. Fecundación 70. Preguntas para discutir 71.

IV FUNDAMENTACIÓN DE LA TEORIA DEL GENE 73.

Experimentos de G. Mendel sobre el cruzamiento monohíbrido 73. Hipótesis de Mendel acerca de la divergencia de los alelos al formarse gametos 78. Teoría de las probabilidades en el análisis de la segregación mendeliana 80. Análisis de la segregación monohíbrida en el siglo XX, aplicado a los animales y las plantas 80. Herencia mendeliana y genética humana 83. Fundamentos cromosómicos de la herencia mendeliana 86. Preguntas para discutir 88

V VARIABILIDAD COMBINATORIA EN LA HERENCIA INDEPENDIENTE DE DOS PARES DE ALELOS 90

Cruzamiento dihíbrido. Segregación para el fenotipo 90. Segregación para el genotipo 91. Formación de los gametos en los diheterocigotos 92. Ley de la transmisión independiente de las parejas de alelos 92. Segregación

trihíbrida y polihíbrida 99. Pruebas biológicas directas de la segregación dihíbrica mendeliana a nivel de la formación de gametos y cigotas 101. Preguntas para discutir 104.

VI INTERACCIÓN DE LOS GENES 107.

Formación del carácter nuevo en la interacción de dos genes dominantes 107. Genes complementarios 107. Genes supresores 111. Manifestación intermedia 113. Polimería 115. Carácter y gene a la luz de los datos de la interacción de los genes 116. Pleiotropía 118. Genes modificadores 119. Equilibrio génico 121. Valoración de confianza de los datos de la segregación en el análisis de la transmisión de los genes 122. Preguntas para discutir 124.

VII ALELISMO 127.

Alelos múltiples 127. Leyes fundamentales de la acción e interacción de alelos 131. Alelismo para el gene *C* en los conejos 135. Alelos de la autoesterilidad y la incompatibilidad en las plantas (alelos del gene *S*) 136. Alelismo en la determinación de los grupos sanguíneos humanos 138. Alelos letales y semiletales 141. Expresividad y manifestación de los alelos mutantes en diferentes condiciones del medio ambiente. Evolución de la dominancia 143. Fenomenología y esencia de la interacción entre alelos 145. Preguntas para discutir 147.

VIII HERENCIA Y AMBIENTE. POBLACIONES Y LÍNEAS PURAS. ESTUDIOS DEL MATERIAL INICIAL DE LA EVOLUCIÓN Y LA SELECCIÓN 150.

Genotipo y fenotipo. Mutaciones y modificaciones 150. Interrelación entre el ambiente y la herencia 152. Estudio de las poblaciones y líneas puras 158. Ley de las series homólogas en la variabilidad hereditaria 164. Estudio de N. I. Vavílov acerca del material inicial para la selección 186. Preguntas para discutir 171.

IX GENÉTICA DE CARACTERES CUANTITATIVOS 173.

Herencia de los caracteres poliméricos en el maíz 174. Herencia del moteado de blanco en los conejos 174. Cuadro general de la polimería y la transgresión 177. Métodos fundamentales del análisis estadístico del fenómeno de la polimería 179. Interacción entre genes y herencia de los caracteres cuantitativos 182. Genes modificadores. Enlace (*linkage*). Alelos 185. Preguntas para discutir 187.

X HERENCIA DE LOS CARACTERES LIGADOS AL SEXO 189.

Determinación cromosómica del sexo 189. Herencia de los genes ligados a los cromosomas sexuales 193. Caracteres ligados al sexo en el ser humano 201. Preguntas para discutir 207.

XI ORGANIZACIÓN GENÉTICA DE LOS CROMOSOMAS. ENTRECRUZAMIENTO COMO MECANISMO DE RECOMBINACIÓN EN LOS GRUPOS DE ENLACE (*LINKAGE*) EN LOS ORGANISMOS SUPERIORES 209.

Análisis genético del enlace incompleto 209. Demostraciones citológicas del entrecruzamiento 212. Pruebas de la relación física de determinados grupos de enlace con cromosomas específicos 216. Disposición lineal de los genes 218. Interferencia y coincidencia 222. Pruebas de la localización de los genes en microzonas físicas de los cromosomas 223. Enlace (*linkage*) de genes y mapas cromosómicos en el ser humano 223. Mecanismo cito-

lógico del entrecruzamiento. Intercambio en la fase de los cuatro filamentos 225. Entrecruzamiento somático 229. Dependencia del entrecruzamiento de las condiciones del medio externo e interno 231. Mecanismo del entrecruzamiento 231. Preguntas para discutir 232.

XII RECOMBINACIONES EN BACTERIAS Y VIRUS 236.

Duplicación del DNA y RNA en los virus 236. Cruzamiento de virus 239. Mapa genético de los virus y cromosoma 240. Recombinaciones en las bacterias 241. Factor *F* o episoma bacteriano 244. Mecanismo de la recombinación enlas bacterias 247. Cromosoma anular en *Escherichia coli*. Mapa genético 249. Preguntas para discutir 251.

XIII RECOMBINACIONES GENÉTICAS EN LOS FENÓMENOS DE LA TRANSFORMACIÓN Y TRANSDUCCIÓN EN LAS BACTERIAS Y EN EL PROCESO PARASEXUAL EN LOS HONGOS 253.

Transformación 253. Recombinaciones genéticas en los fenómenos de transducción 258. Recombinación genética en las condiciones del proceso parasexual en los hongos 261. Preguntas para discutir 265.

XIV MECANISMOS MOLECULARES DE LA RECOMBINACIÓN GENÉTICA Y CONVERSIÓN DE LOS GENES 267.

Pruebas a favor de la hipótesis «ruptura — reunión» 267. Mecanismos moleculares del entrecruzamiento 268. Conversión de los genes 271. Entrecruzamiento y mutaciones 272. Preguntas para discutir 275.

XV GENÉTICA BIOQUÍMICA 277.

Genes y enzimas 277. Un gene—una cadena polipeptídica 285. Genes e isoenzimas 286. Acción de los genes y estructura primaria de las proteínas 287 Inmunogenética 290. Preguntas para discutir 294.

XVI ESTRUCTURA DEL GENE Y MECANISMO DE SU ACCIÓN 296.

Teoría de centros del gene 296. Pseudoalelismo y complementación de los alelos 298. Fundamentos moleculares de la estructura del gene 300. Transcripción de las moléculas de RNA*m* 303. Traslación de la información genética 307. Regulación de la acción de los genes 321. Agrupación de los genes según el carácter funcional en los cromosomas de las procariotas 327. Control de los procesos de duplicación 328. Efecto de posición de los genes 329. Fenómenos de compensación, problemas de inactivación del cromosoma *X* en los mamíferos y efecto de posición de los genes 330. Regulación genética en la acción de los genes que determinan diferentes formas de la hemoglobina humana 333. Polilocucidad en la organización de los cromosomas en los organismos superiores 336. Preguntas para discutir 342.

XVII TEORIA DE LAS MUTACIONES. MUTAGÉNESIS ESPONTÁNEA 345.

Clasificación de las mutaciones 345. Mutaciones estructurales de los cromosomas 350. Deleciones 351. Duplicaciones 355. Translocaciones 358. Inversiones 362. Isocromosomas 365. Cromosomas anulares 365. Ensarte de los cromosomas anulares 370. Aneuploidía 371. Métodos de cálculo de las mutaciones genéticas en *Drosophila* 373. Frecuencia de mutación génica 377. Mutaciones espontáneas en *Neurospora*, bacterias y fagos 378. Mutaciones espontáneas en el ser humano 378. Factores del proceso mutacional espontáneo 383. Genes mutantes 384. Preguntas para discutir 385.

XVIII MUTAGÉNESIS DE LA RADIACIÓN 387.

Factores principales de los efectos genéticos de la radiación 387. Dependencia de la dosis y problema del umbral en cuanto a los efectos genéticos de la radiación 390. Fenómeno del máximo de las mutaciones inducidas por radiación. Dosis y calidad de las mutaciones. Dosis y cantidad relativa de mutaciones 396. Modificación de los efectos radiogénicos 397. Efecto genético de la potencia y fraccionamiento de la dosis 399. Problema de las dosis pequeñas 403. Sobre la eficacia biológica relativa (EBR) de los diferentes tipos de radiación 406. Modificadores de los efectos genéticos de la radiación 407. Efecto mutagénico de la luz ultravioleta 410. Reparación de lesiones del material genético 411. Provocación de mutaciones estructurales de los cromosomas bajo la acción de la radiación y los mutágenos químicos 415. Modificaciones potenciales premutacionales de los cromosomas 419. Empleo de la radiación y los mutágenos químicos en la selección de los microorganismos, plantas y animales 420. Radiación y herencia humana 422. Preguntas para discutir 425.

XIX MUTAGÉNESIS QUÍMICA 428.

Propriedades químicas de las sustancias mutagénicas 428. Especificidad en la mutagénesis química 431. Cromosomas en las diferentes fases del ciclo celular y acción de los mutágenos químicos 433. Acerca del mosaicismo mutacional 437. Acerca de la naturaleza de la mutagénesis prolongada 439. Mutagénesis de resonancia 441. Mutaciones y procesos de reparación 444. Tipos fundamentales de afecciones potenciales en los experimentos citogenéticos 448. Variaciones potenciales con corto período de vida 449. Variaciones potenciales con largo período de vida limitado por un ciclo celular las cuales se fijan en mutaciones en la fase de síntesis del DNA 450. Variaciones potenciales de largo período de vida con un plazo variable de fijación 450. Variaciones potenciales génicas y aberraciones cromosómicas que se duplican pasando a través de una serie de síntesis del DNA 453. Preguntas para discutir 458.

XX BASES MOLECULARES DEL FENÓMENO DE LAS MUTACIONES Y PROBLEMA DE LA MUTACIÓN DIRIGIDA 459.

Bases moleculares de las mutaciones en el caso de la aparición de afecciones primarias de las moléculas de DNA formadas 462. Bases moleculares de las mutaciones y procesos de autorreproducción de la molécula de DNA 466. Mecanismos moleculares de las mutaciones inversas 467. Bases moleculares de la acción de isótopos radiactivos y radiaciones ionizantes 468. Acerca de la especificidad y el carácter dirigido de las mutaciones químicas inducidas 469. Sustitución de los aminoácidos 478. Preguntas para discutir 480.

INTRODUCCIÓN

La Genética es la ciencia que trata acerca de la herencia y la variabilidad de los organismos vivientes. Está destinada a descubrir las leyes de la reproducción de lo vivo a través de las generaciones, la aparición de nuevas propiedades en los seres vivos, las leyes del desarrollo individual y la base material de las transformaciones históricas de los organismos vivos en el proceso de la evolución.

Los dos primeros problemas son resueltos mediante la teoría del gene y la teoría de las mutaciones. La esencia de los procesos del desarrollo individual desde el óvulo hasta el individuo vivo se basa en la realización del programa genético. El descubrimiento de los fundamentos moleculares de la herencia elevó la teoría del gene y la de las mutaciones a una cima sin precedentes. Ambas en su aspecto actual pertenecen al grupo de las grandes generalizaciones de la ciencia del siglo XX.

El esclarecimiento de la esencia de la reproducción para una variedad concreta de las formas vitales exige el estudio de los fenómenos de la herencia en los especímenes, que se hallan en los diferentes niveles del desarrollo evolutivo. Los virus, bacterias, plantas, animales y el ser humano son objetos de estudio de los genetistas. En la Genética especial no sólo para los tipos, clases, familias y los géneros, sino que también para cada una de las especies el investigador encuentra múltiples particularidades concretas.

Simultáneamente con la especificidad de las especies y otras, se detectan las leyes universales para los fenómenos de la herencia de todos los seres vivos. La existencia de éstas demuestra la unidad del mundo orgánico, cuya base la constituye la célula que es el sistema elemental, el que resulta indispensable para la manifestación de la vida en todos los niveles de su organización. Para cada célula es invariable el fenómeno hereditario, es decir, la capacidad de reproducirse.

En el transcurso de todo el siglo XX, la Genética se ha desarrollado no sólo como una parte del sistema general de las Ciencias Naturales, sino también, en interdependencia de la Selección práctica y las exigencias de la Medicina. La relación de la Genética con los problemas sociales ha jugado un gran papel, puesto que la Genética se refiere ampliamente a la Biología del ser humano.

La Selección es la ciencia que trata acerca de la transformación dirigida de las razas animales, de las variedades de las plantas, de las cepas de los microorganismos, de las bacterias y los virus. Es muy importante el conocimiento de las leyes generales de la herencia para solucionar estas tareas. Los logros de la genética en forma de métodos para la obtención de híbridos en desarrollo vigoroso (heterosis); la obtención del material inicial para la selección mediante la hibridación intraespecífica e interespecífica, la mutagénesis experimental, la poliploidía; la elaboración de la teoría genética de la selección y otros logros, es lo que ha abierto nuevos horizontes para la Selección práctica. Semejante esfera contemporánea de la práctica, como la selección de los microbios para solucionar los problemas de alimentación, técnicos y médicos, se basa totalmente en la utilización de la mutagénesis experimental y en otros logros de la genética general y molecular.

Importantísimas tareas han surgido ante la Genética humana. El estudio de la categoría ampliada de las enfermedades hereditarias está provocado por un profundo interés de la Medicina hacia los problemas de la Genética. Entre éstas se han detectado enfermedades cuyas causas son las mutaciones de genes y la alteración en la estructura o en el número de cromosomas. Algunas enfermedades génicas han obtenido la denominación de moleculares, al ser descubierta la esencia de los cambios moleculares, que resultan ser las causas iniciales de estos padecimientos. La Genética médica plantea la tarea de librar a la humanidad de los defectos biológicos hereditarios. La existencia de la unicidad bioquímica y fisiológica hereditariamente condicionada en cada persona adentra a la Medicina en la esencia del proceso individual de las enfermedades, la naturaleza de la incompatibilidad en los trasplantes de órganos, la individualidad de las reacciones alérgicas, la capacidad de los individuos a adaptarse a diferentes condiciones de vida, incluyendo las extremas, tales como, las del cosmos, la vida en las profundidades de los océanos, etc. Las cuestiones de la elección de la profesión, del desarrollo de las vocaciones y capacidades, representan un gran problema de la educación individualizada que está totalmente ligado a la evolución de la Genética general, molecular y la de población humana.

Las tareas que se plantean ante la Genética por su complejidad y por su responsabilidad son inmensurablemente sin precedentes a la luz de los hechos de la influencia de la revolución científico-técnica sobre el medio circundante de los seres vivos en la Tierra.

Las variaciones de la biosfera no sólo alteran las condiciones de vida de los organismos, sino que pueden ejercer una influencia nociva sobre la herencia. Surgió el problema de las mutaciones radiactivas y químicas de los genes del medio ambiente. La solución de los problemas de la Biología cósmica y la esencia de la vida extraterrestre, si es que llega a ser descubierta, son inconcebibles sin el empleo de las leyes de la Genética general.

Los éxitos de la Genética molecular han demostrado que las propiedades hereditarias de los organismos vivientes están registradas en las estructuras moleculares de los ácidos nucleicos, y principalmente del ácido desoxirribonucleico, o sea, DNA. Sobre esta base fueron descubiertos los aspectos principales del fenómeno de la herencia, y en los últimos años surgió el estudio de la Ingeniería genética. La propia conjugación de estos términos señala las tareas de la construcción y de la creación racional de las formas orgánicas necesarias al hombre. En los experimentos mediante la síntesis dirigida de las moléculas «vivas» del DNA, la Genética se aproxima a las bases del fenómeno de la vida. Aquí se hace un intento de tender un puente entre lo animado y lo inanimado. El aislamiento de genes y la síntesis enzimática de los genes en el tubo de ensayo, la síntesis química de los polímeros del DNA, y el empleo de las plasmidas permite resolver los problemas de la hibridación molecular. La introducción de tales elementos en células ajenas les transmite por vía directa las cualidades necesarias.

La Genética moderna se desarrolla con extraordinaria rapidez al haberse logrado la posibilidad del estudio molecular de la herencia y al estar relacionada ésta con los problemas de la vida. A inmensurables ritmos aumentan los hechos y se crean las generalizaciones teóricas. Esto provoca un flujo de publicaciones, un número cada vez más creciente de revistas, libros y simposios. Cada cinco años se celebran congresos internacionales de Genética y congresos que tratan acerca de la Genética humana.

Comúnmente la historia de la Genética se divide en las etapas de la Genética clásica y la molecular. En realidad el desarrollo de dicha ciencia ha atravesado por tres etapas marcadamente diferenciadas. La primera es la época de la Genética clásica, que se extiende del año 1900 al 1930. Este fue el período en que se creó la teoría del gene y la teoría cromosómica de la herencia. Un significado importantísimo tuvo también el perfeccionamiento del estudio acerca del genotipo y el fenotipo, de la interacción entre genes, la elaboración de los principios genéticos de la selección individual, y la fundamentación del estudio sobre la movilización de los recursos del planeta para los fines de la selección.

A partir de 1930 hasta 1953 transcurrió el período del neoclasicismo en la Genética. Durante estos años fue descubierta la posibilidad de provocar artificialmente alteraciones en los genes y en los cromosomas (mutagénesis experimental), se descubrió que el

gene es un sistema complejo, que puede fraccionarse; fueron fundamentados los principios de la Genética de poblaciones y de la Genética evolutiva; se creó la Genética bioquímica que mostró el papel de los genes en todas las biosíntesis fundamentales en la célula y en el organismo; se obtuvo la certificación de que las moléculas de DNA son la base del código de la información genética. Todos estos descubrimientos ejercieron una significativa influencia sobre los métodos de la Selección. Fueron fundamentados los principios de la Genética médica. La humanidad entró en la época atómica, lo que conllevó al desarrollo de la Genética radiológica. La época del neoclasicismo en la Genética estuvo ligada a la obtención de un gran material de hechos, a la profundización de los principios de la Genética clásica y a la vez a la revisión de una serie de posiciones antiguas.

La época de la Genética de síntesis comenzó en el año 1953, cuando fue descubierta la estructura y la importancia genética de la molécula del ácido desoxirribonucleico (DNA). Frecuentemente este tiempo se considera como el período de la Génética molecular. En realidad los principios moleculares no sustituyeron ni desplazaron la Genética general y especial de los organismos, sino que éstos formaron su parte integrante. En estos tiempos el desarrollo de la teoría del gene y la de las mutaciones, de la Genética bioquímica y evolutiva, de la Genética humana y de otras ramas de la Genética general y especial alcanzó nuevas cimas. La unión de éstas con la Genética molecular facilitó el enfoque de síntesis del problema de la herencia. Con lo dicho está relacionado también el nuevo papel que esta ciencia desempeña en la Agricultura y en la Medicina, para las cuales ésta se ha convertido en una fuerza productiva directa. Las propiedades biológicas del ser humano se transforman en el objetivo central de las investigaciones genéticas. El desarrollo de la Ingeniería genética presagia el poder sin precedentes del hombre sobre el mundo orgánico.

Al revelar la dialéctica en los procesos materiales de la herencia, del desarrollo individual y en la evolución, la Genética se ha convertido en uno de los fundamentos del materialismo filosófico.

En nuestros días ésta se presenta como una ciencia bioquímica y fisiológica que se sustenta sobre las leyes del desarrollo histórico de los organismos vivientes, y se encuentra pertrechada de métodos integrales basados en la Química, Física, Matemáticas y la Cibernética. La Genética estudia las leyes de la reproducción de lo vivo y su esencia, se utiliza en la práctica de la Agricultura y la Medicina, en la protección de la herencia humana de afecciones, plantea de una manera nueva la cuestión del empleo de los recursos biológicos de la Tierra e investiga el problema de «El hombre y la biosfera». Todo esto hace que la ciencia en cuestión sea la ciencia clave de la Biología moderna.

El CC del PCUS y el Consejo de Ministros de la URSS, aprobaron una Resolución acerca del desarrollo de la Biología molecular y la Genética molecular. En ésta se señala que, «basándose en la amplia utilización de los logros de la Química, Física y las Matemáticas en la Biología ha sido posible investigar los mecanismos moleculares de los procesos más importantes que determinan la existencia y el desarrollo de la materia viva» y que esto tiene «un gran valor teórico y aplicado para el fomento de la Agricultura, Medicina y toda una serie de ramas de la industria». La Resolución hace un balance del desarrollo de la nueva Biología asegurándole un amplio fomento en la URSS.

El presente libro está dedicado a las cuestiones de la Genética general. En éste se describen los logros de la Genética clásica de la época del neoclasicismo y de la Genética moderna general y molecular. Propósito del libro es presentar la Genética nueva desde posiciones de la síntesis actual. El manual puede ser utilizado también para familiarizarse con el contenido de la Genética como ciencia y como introducción a una serie de problemas contemporáneos. En la presente edición del libro, su texto ha sido reelaborado en gran medida y completado con nuevos datos, se le han insertado capítulos dedicados a cuestiones tan actuales como la «Ingeniería genética» y los «Mutágenos ambientales». El autor quedará muy reconocido por las críticas y observaciones que puedan hacérsele a la presente edición en español.

I Célula e información

HERENCIA Y VARIABILIDAD. En la propia esencia de la forma biológica del movimiento de la materia reside la propiedad de la autorreproducción, la cual garantiza la continuidad genética a través de la historia de todas las formas de vida. La vida sobre la Tierra surgió hace más de 4 mil millones de años y desde entonces, a través de las sucesivas generaciones, los organismos reproducen sus formas y funciones en sus descendientes.

La reproducción de la vida es precisamente el proceso de la herencia. En ella se revela el aspecto invariable de los fenómenos vitales y el principio de la conservación. Sin embargo, la vida es inconcebible sin variabilidad. El proceso histórico de la evolución condiciona el progreso de las especies, creando las formas cada vez más nuevas y complejas de adaptación activa de los organismos a las condiciones sobre la Tierra. El fenómeno de la evolución se basa en las desviaciones hereditarias de los organismos.

En el año 1858, Remak y Virchow, basándose en la teoría celular, creada en 1838 por Schleiden y Schwann, argumentaron la tesis de que toda célula se origina sólo de otra célula.

En el año 1859 C. Darwin creó la teoría, según la cual, la herencia, la variabilidad y la selección natural eran factores de la evolución. Darwin demostró que las nuevas especies de organismos vivientes proceden solamente de otras especies preexistentes

En 1875 Pasteur demostró mediante experimentos con microorganismos, que los antiguos criterios acerca de la generación espontánea de la materia viva eran el producto de errores de la observación. En realidad a todos los niveles de organización lo vivo procede solamente de lo vivo.

En el año 1892, D. I. Ivanovski descubrió la existencia de los virus, demostrando que los agentes autorreproductores del mosaico

Fig. 1. Microfotografía de las partículas del virus del mosaico del tabaco

ve las hojas del tabaco eran tan pequeños, que podían pasar a través de los poros de filtros, los cuales retenían a las células bactedianas. En la actualidad podemos estudiar la morfología de los virus gracias al empleo del microscopio electrónico (fig. 1). La longitud de las partículas bastonadas del virus del mosaico del tabaco, resultó ser igual a 300 mμ. Los virus son formas acelulares, compuestos por ácidos nucleicos y proteínas.

¿Contradice acaso la existencia de formas de vida acelulares a los principios de la teoría celular? No, por cuanto las partículas del virus pueden revelar propiedades de organismos vivos sólo dentro de un sistema celular, donde una partícula inicial se transforma en cientos de partículas hijas, en las que se reproducen todos los detalles de la estructura molecular de la partícula inicial. Este proceso de reproducción recibió el nombre de autorreproducción. Los principios de este fenómeno fueron fundamentados teóricamente en el año 1928 por N. K. Koltsov.

Mientras las partículas del virus se hallan fuera de la célula, se encuentran en el límite entre lo animado y lo inanimado, sin manifestar propiedades de la vida. Sin embargo, cuando los virus se introducen en la célula bacteriana (bacteriófagos), en la célula de una planta (virus vegetales) o en una célula animal (virus animales), aprovechan en ésta la «maquinaria» bioquímica celular, y manifestando todas las propiedades características de la

materia viva. En estas condiciones la «información» codificada en una partícula inicial del virus se transmite a cientos de sus descendientes. Información resulta ser sinónimo de la palabra «herencia». Es conocido que la sustancia, la energía y la información forman la tríada de la vida.

Por información se entiende la propiedad de percibir el estado interno y la acción del medio ambiente, guardar sus resultados, elaborarlos y transmitirlos. La estructura de la información caracteriza el estado interno del sistema. El rol de la información (externa) se manifiesta en los procesos de evolución adaptativa de los organismos. Al igual que la energía, la información no existe por sí sola. Esta se representa con las estructuras, que por lo general, se difieren de las estructuras y procesos que codifica dicha información. Posteriormente veremos que en una porción del polímero del ácido nucleico resultó codificada la estructura de la molécula de la proteína. Se entiende por código el sistema de signos convencionales. En la célula viva la información se halla representada por estructuras genéticas, en las cuales se refleja la historia del desarrollo de lo vivo, o sea, de la información misma. Estas estructuras son los polímeros de los ácidos nucleicos.

Mediante formaciones moleculares que no son otra cosa que ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos y por los procesos de su interacción se garantizan en la célula la materia, la energía y la información. Las proteínas son sustancias complejas de gran peso molecular. Las moléculas de las proteínas se construyen a base de 20 aminoácidos principales. A la par con las proteínas simples juegan un importantísimo papel las proteínas complejas. Al combinarse las proteínas fundamentales con los ácidos nucleicos se originan los nucleoproteidos. Los carbohidratos están compuestos por carbono, oxígeno e hidrógeno; éstos no contienen nitrógeno. Los lípidos, son un grupo de sustancias heterogéneas que incluyen las grasas, aceites, fosfolípidos, esteroles, carotenoides y otros.

Todos estos compuestos están organizados en forma de un sistema vivo que posee una estructura compleja y un orden fijo en que transcurren los procesos bioquímicos. La sustancia de la célula en su totalidad recibe el nombre de protoplasto, se divide en dos principales componentes estructurales y bioquímicos que son el citoplasma y el núcleo. La proteína del citoplasma es el fundamental portador material que manifiesta las propiedades de la vida. Sin embargo, la síntesis de esta proteína se codifica bajo la influencia de los ácidos nucleicos contenidos en el núcleo. El ácido nucleico de los núcleos celulares es el ácido desoxirribonucleico (DNA). En la celula el DNA es el tipo de moléculas fundamental en las que se encuentra codificada la información genética. Determinadas porciones del DNA han recibido el nombre de genes. El núcleo de la célula contiene cromosomas, en los que

se concentran las moléculas del DNA genéticamente importantes.

La síntesis de las proteínas se codifica por los genes, sin embargo ésta ocurre con ayuda de las moléculas del ácido ribonucleico especial (RNA). Estas moléculas de RNA también se sintetizan en las matrices de los genes. Ellas transmiten el código genético de las moléculas de DNA contenidas en el núcleo, siendo los intermediarios en la síntesis de las proteínas que ocurre en el citoplasma. Este papel que desempeña el RNA es garantizado por el hecho de que sus moléculas se sintetizan inicialmente en las moléculas del DNA en el interior del núcleo, sin embargo, pasan al citoplasma donde determinan la síntesis de las proteínas.

La célula representa el único sistema material que conocemos, que posee en toda plenitud las propiedades de la vida. Sólo la célula íntegra posee las propiedades de autorregulación y autorreproducción. Esta porta la información genética codificada que representa el resultado del desarrollo evolutivo de la especie y el fundamento de toda su evolución futura. Cada célula posee el programa genético del desarrollo individual del organismo. Así, el óvulo fecundado del ser humano tiene en potencia todas las bases para el desarrollo del individuo y esto se hace extensivo a todo organismo de cualquier especie animal o vegetal.

El aspecto más importante de la vida de una célula, como sistema de composición química y de estructura determinadas, es que su existencia sería imposible sin la afluencia permanente de energía y del metabolismo. La vida de la célula se halla en amplia interrelación con las condiciones del medio ambiente. Todo esto permite caracterizar a la célula como un sistema abierto. La esencia de la vida está relacionada con la interacción dentro del sistema estructural-bioquímico, principalmente, de los tres componentes más importantes de la célula: proteínas, ácidos desoxirribonucleico y ribonucleicos. El fenómeno de la vida en la Tierra puede ser caracterizado como la interacción entre el DNA, los RNA y las proteínas en un sistema abierto, que posee la información a través de la historia y la autorreproducción. El reconocimiento de que la evolución de la información se efectúa sobre la base de un sistema abierto, confirma la unidad dialéctica entre las condiciones del medio externo y los organismos vivientes. La característica del fenómeno de la vida como un proceso basado en la información, que está codificada en las moléculas de ácidos nucleicos señala la inmensa y determinante significación de lo interno en los fenómenos y la historia de la vida. La observancia de la organización estructural y bioquímica de la célula evidencia el gran significado de la sistematicidad, integridad, y autorregulación en los fenómenos de la vida.

La herencia (información) es una característica integrante de la vida. La variabilidad de las formas de información a través de las leyes de la evolución asegura el progreso de la vida y la diferenciación en sistemas específicos y de otras categorías.

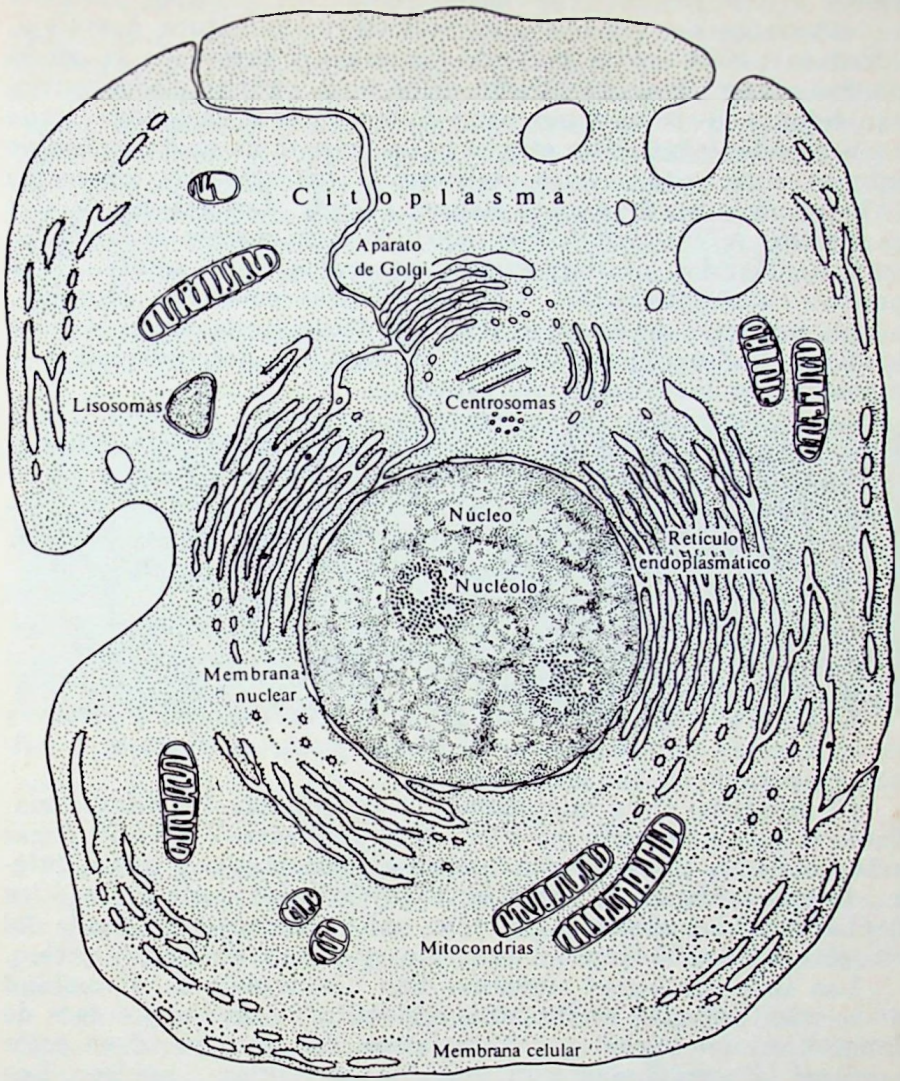


Fig. 2. Célula según datos modernos obtenidos con ayuda del microscopio electrónico

EL CITOPLASMA DE LA CÉLULA. El citoplasma, al igual que el núcleo, es un componente principal de la célula (fig. 2), y está relacionado con el metabolismo. El citoplasma se encuentra compuesto en un 85% por agua y en un 10% de proteínas. Contiene una serie de orgánulos que responden por el metabolismo energético y químico de las células. La energía celular es elaborada por estructuras especiales que reci-

bieron el nombre de mitocondrias. Estas son cuerpos esféricos o bastonados de variadas dimensiones y estructura compleja. Alrededor de la cuarta parte de proteínas y grasas de la célula pueden encontrarse concentradas en las mitocondrias. Estas contienen decenas de enzimas, una parte de las cuales se encuentra ligada a sus paredes interiores y otra se halla suspendida en su contenido interno. Las mitocondrias elaboran el trifosfato de adenosina (ATP) que es un compuesto rico en energía. Los enlaces de alta energía del ATP sirven de fuente principal de energía en la célula.

Los plástidos son importantes organelos de la célula. Ellos pueden autorreproducirse. Los cloroplastos contienen clorofila, la que participa en los procesos de la fotosíntesis. Los plástidos incoloros (o leucoplastos) sintetizan almidón, los cromoplastos, pigmentos y los evoplastos, grasas.

La investigación del citoplasma mediante el microscopio electrónico condujo al descubrimiento del sistema de membranas y canales que comienzan a partir de la membrana exterior de la envoltura nuclear. Este sistema, compuesto de proteínas y fosfolípidos, ha recibido el nombre de retículo endoplasmático. Además, se han descubierto partículas submicroscópicas: los ribosomas, que están compuestos por proteínas y RNA, sus dimensiones equivalen a 120—150 Å de diámetro. En los ribosomas se efectúa la síntesis de la proteína. Ellos contienen hasta un 90% del RNA que existe en la célula.

El aparato o complejo de Golgi, al parecer, acumula y preserva las sustancias sintetizadas en la célula; puede desaparecer y volver a aparecer en las mismas.

El problema de la estructura y la bioquímica del citoplasma, desde el punto de vista genético, debe analizarse en primer lugar a la luz de las interacciones nuclear-citoplasmáticas, o sea, enfocando los problemas de la transferencia de la información genética desde del núcleo al citoplasma y las cuestiones de la influencia del citoplasma sobre los cambios de la información genética en el núcleo.

Las investigaciones modernas han demostrado la diversidad de la manifestación estructural y bioquímica de los procesos de interacción del núcleo y el citoplasma. Un gran papel en estos procesos le corresponde a las membranas celular y nuclear. Las membranas citoplasmáticas en las células resultaron ser estructuras fisiológicamente activas y estar sometidas al control génico. Además, éstas pueden actuar como reguladores del comportamiento de los cromosomas y de la acción de los genes. Las señales captadas desde la envoltura celular pueden modificar la acción del genotipo; el contacto de los cromosomas con la membrana de la envoltura garantiza la duplicación de los cromosomas de las bacterias, etc.

CROMOSOMAS DE LOS VIRUS

Existen dos formas importantes de organización del material genético determinadas históricamente. Los virus, las bacterias

y las algas cianofíceas (verdeazules) pertenecen al grupo de las procariotas. En ellos los cromosomas están representados por moléculas de DNA (con menos frecuencia de RNA,) incluidos en el citoplasma de las células. En el grupo de las eucariotas (todas las plantas y animales, incluyendo las formas inferiores) los cromosomas son nucleoproteidos, o sea, polímeros complejos de ácidos nucleicos y proteínas. Los cromosomas de las eucariotas forman parte del núcleo de las células, que está separado del citoplasma por la membrana nuclear. La información genética en este caso también se encuentra ligada a la molécula de ácidos nucleicos.

Las moléculas de DNA de los virus a menudo forman anillos cerrados. En el fago lambda la longitud de la molécula es igual

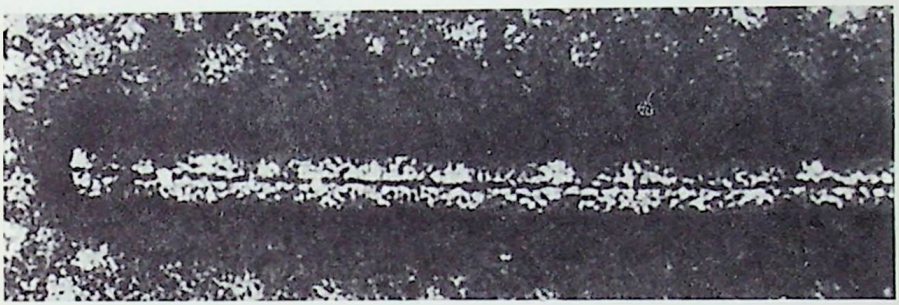


Fig. 3. Partícula del virus del mosaico del tabaco

Diámetro de la partícula—180 Å, Longitud completa—3000 Å (según Finch, 1964)

a 17μ y su grosor, aproximadamente de 20 Å. El peso molecular es igual a 30 millones. Este cromosoma contiene alrededor de 50 genes, siendo homogéneo morfológicamente en toda su longitud, como ha sido demostrado por las microfotografías electrónicas.

Los cromosomas de los fagos *T2*, *T4* y *T5*, que infectan la *Escherichia coli*, han sido bien estudiados. En estos casos la partícula del fago contiene una sola molécula de DNA. En los fagos *T2* y *T4* ésta es igual a 56 μ aproximadamente. El volumen de la cabeza del fago *T4* equivale a $2 \cdot 10^{-16}$ cm^3, aproximándose a éste el de su molécula de DNA. Queda por esclarecer cómo en este caso la molécula lineal de DNA se encuentra ubicada en la partícula del fago.

Existen virus en los cuales la información genética no está codificada en las moléculas de DNA, sino en las de RNA. Un ejemplo de ello bien estudiado, es el virus del mosaico del tabaco, en el cual la espiral del RNA forma algo parecido a un cilindro hueco, envuelto por un revestimiento proteico exterior (fig. 3).

Los cromosomas de los virus compuestos por DNA o RNA

no forman complejos con ninguna otra sustancia. Estas son puras moléculas de ácidos nucleicos. Los programas genéticos de los virus, o sea, las moléculas de DNA o RNA, se activan solamente cuando se introducen en el sistema celular del huésped. Al encontrarse en la partícula vírica, todos los genes del mismo «callan», es decir, son inactivos. El estado inactivo de los genes no es propio sólo de los virus que se hallan fuera de la célula, sino que también para los que se encuentran en los espermatozoides de los animales. En diferentes tejidos animales o vegetales unos genes permanecen «callados», mientras que otros funcionan con gran intensidad.

CROMOSOMAS DE LAS BACTERIAS Y DE LAS ALGAS VERDEAZULES. Las células de las bacterias de las algas verdeazules se caracterizan por tener rasgos primitivos si son comparadas con las células de los demás organismos. Las células primitivas no tienen bien manifestado el huso de la división, no poseen mitocondrias ni envoltura nuclear.

Los cromosomas de las bacterias y de las algas verdeazules están compuestas de DNA puro. La longitud de los cromosomas de la bacteria *E. coli* es alrededor de 1000μ y la de la bacteria *Hemophilus*, 860μ. El diámetro de los cromosomas es de 20 Å. Esto demuestra que en la base de los cromosomas de las bacterias y de las algas verdeazules descansa una molécula simple de DNA, que no forma complejo con proteínas. Los cromosomas de los virus, las bacterias y las algas verdeazules se encuentran fuera de los límites permitidos por el microscopio de luz. Ellos son estudiados mediante las microfotografías electrónicas.

EPISOMAS Y PLASMIDAS. El material genético puede existir aparte de los cromosomas en forma de elementos individuales. Estos elementos hereditarios suplementarios recibieron el nombre de episomas.

Un rasgo característico de los episomas es que ellos pueden ser autónomos con relación a los cromosomas de la bacteria o pueden introducirse en éstos, convirtiéndose en uno de sus locus. Después de realizarse la integración al cromosoma, la duplicación concierne a todo el material genético.

Los episomas suelen tener origen viral o no viral. Un ejemplo conocido de episoma bacterial de origen no viral es el factor de la fertilidad (F). Al conjugarse las bacterias, el material genético se transmite de la célula donante a la recipiente. Las células donantes reciben el nombre de masculinas (F^+). Estas células tienen un episoma (F^+), mientras que las células femeninas no lo poseen (F^-).

Un ejemplo de episoma de origen viral es el cromosoma del fago lambda después de introducirse en la célula bacteriana. Al penetrar en la célula, este cromosoma se integra al mismo de la bacteria, convirtiéndose en un profago. Este fenómeno ha sido

denominado lisogenía. El profago se reproduce al duplicarse junto al cromosoma del huésped. Al variar las condiciones el profago abandona el cromosoma de la bacteria y se convierte en un episoma autónomo. Este se escapa del control de la célula bacteriana, se reproduce y como resultado de esto, la célula muere (por lisis). Las partículas del fago lambda liberadas infectan a las nuevas células bacterianas. Los episomas al salir del cromosoma del huésped pueden llevar consigo partículas de estos últimos. Al introducirse en nuevos cromosomas, los fagos aportan a los mismos el material genético suplementario. La capacidad de los episomas de introducirse en los cromosomas aportando a ellos un material genético ajeno, como observaremos posteriormente, es de gran interés.

A la par con los episomas, el material genético separado de los cromosomas se representa en forma de plasmidas. A diferencia de los episomas, las plasmidas siempre se encuentran en las células en estado autónomo, siendo incapaces de integrarse a los cromosomas. Un sinónimo de plasmida es el plasmagene. Un ejemplo de éstas, es la plasmida *R* que determina la resistencia de las células bacterianas a los antibióticos.

Merece considerar, que el fenómeno de los episomas y las plasmidas es propio también de las células de los organismos superiores.

NÚCLEO DE LA CÉLULA Y CROMOSOMAS. Las células eucariotas poseen un núcleo, que se encuentra delimitado del citoplasma por la envoltura nuclear. Sus cromosomas son nucleoproteidos, cuyas dimensiones son suficientemente grandes para ser estudiadas mediante el microscopio de luz.

Un análisis químico minucioso de los cromosomas de las eucariotas demostró, que además de DNA e histonas, los cromosomas contienen moléculas de RNA, proteínas residuales ácidas complejas, lípidos, calcio, magnesio y posiblemente contengan también hierro. En los espermatozoides de una serie de especies animales, la histona que forma parte de los cromosomas es sustituida por la protamina. El complejo DNA — histona representa la base estructural de los cromosomas. De los dos componentes del cromosoma, el DNA se caracteriza por su estabilidad dentro de los límites de la vida de la célula y la continuidad genética en la reproducción de éstas. Las histonas están constantemente renovándose en los nucleoproteidos. El DNA está ligado a las histonas mediante enlaces iónicos. Las moléculas de RNA que se encuentran en los cromosomas no forman parte de su estructura. El papel de este ácido se encuentra relacionado con la transmisión de la información de los genes para la síntesis de las proteínas. Como norma, la cantidad de DNA en la célula para los organismos de una misma especie es una magnitud constante. En las células somáticas la cantidad de DNA sobrepasa dos veces la cantidad de

DNA que se encuentra en los núcleos de los espermatozoides o de los óvulos.

El núcleo celular fue descrito por primera vez por R. Brown, en el año 1831. Este generalmente ocupa el centro de la célula presentando forma esférica. La esfera del núcleo se encuentra separada del citoplasma por una doble capa de membranas unidas y contiene plasma, que se ha denominado jugo nuclear. El nombre de cromosomas fue propuesto en el año 1888 por W. Waldeyer.

Cada cromosoma posee una forma y un contenido genético individuales. Los cromosomas cambian de longitud al recorrer el ciclo celular, conservando a plenitud la información genética que le es propia. Estos se encuentran estirados al máximo en la interfase. Por el contrario, en la mitosis, cuando los cromosomas se encuentran en la metafase y están preparándose para distribuirse a las células hijas, se acortan al máximo debido a su disposición especial y la espiralización del filamento nucleoproteico al unirse los enlaces químicos entre el DNA y las proteínas. Al iniciarse la interfase y al terminarse la mitosis, los cromosomas se alargan desenrollándose y despiralizándose. El estudio de la estructura de los núcleos de diferentes especies proporciona mejores resultados al ser analizados los cromosomas en la metafase, ya que se encuentran en estado de contracción. En este caso es muy fácil contarlos y estudiar las particularidades individuales. El análisis de estos cromosomas en la metafase demostró que el número y la estructura de los mismos es característico para cada especie de organismos vivientes:

Especie	Número de cromosomas	Especie	Número de cromosomas
Ser humano, *Homo sapiens*	46	Trigo duro, *Triticum vulgare*	42
Ganado bovino, *Bos taurus*	60	Centeno, *Secale cereale*	14
Caballo, *Equus caballus*	66	Arroz, *Oryza sativa*	24
Perro, *Canis familiaris*	78	Manzano, *Malus sylvestris*	51 ó 34
Ratón casero, *Mus musculus*	40	Ciruelo, *Prunus domestica*	48
Conejo, *Oryctolagus cuniculus*	44	Algodón, *Gossypium hirsutum*	52
Rana, *Rana esculenta*	26	Patata, *Solanum tuberosum*	48
Drosofila, *Drosophila melanogaster*	8	Girasol, *Helianthus annuus*	34
Maíz, *Zea mays*	20		

El análisis microscópico demostró, que los cromosomas, representados mediante largos filamentos, son heterogéneos en toda su longitud. Este cuadro puede detectarse mucho mejor al estudiar las fases tempranas de la preparación de la célula a la mitosis.

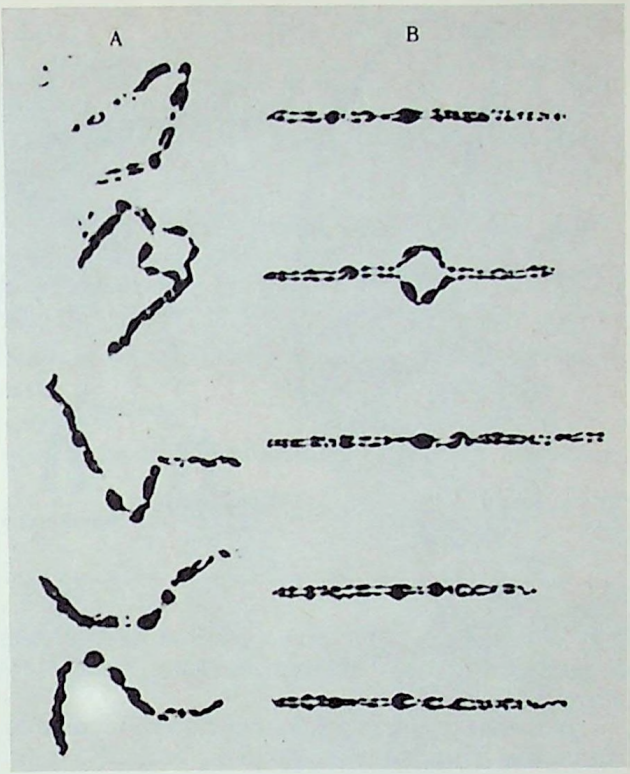


Fig. 4. Cromosomas homólogos humanos conjugados en la meiosis

A—microfotografía (×2380) *B*—secuencia de los cromómeros en los homólogos (por G. Yerganian, 1957)

En todos estos casos se pueden distinguir en los cromosomas condensaciones locales de DNA en forma de cromómeros, representados por engrosamientos claramente visibles (fig. 4).

La estructura real del cromosoma debe investigarse a nivel molecular. Realmente, el cromosoma es un filamento gigante con una superficie funcional inmensa.

Para que se efectúa el proceso de separación de los cromosomas hermanos en celulas hijas, juega un papel importante la formación del centrómero o cinetócoro, propio de todos los cromosomas. Citológicamente el centrómero tiene el aspecto de una constricción primaria, que en los cromosomas con diferente morfología se encuentra en distinta posición con relación a sus extremos. El centrómero determina la forma del cromosoma en la metafase (fig. 5). Al situarse los centrómeros cerca del extremo, el cromosoma adopta el aspecto de bastoncito y se denomina telocéntrico. Si el centrómero se encuentra en el medio, el cromosoma adoptará el aspecto de estructura en forma de X y se denominará metacéntrico.

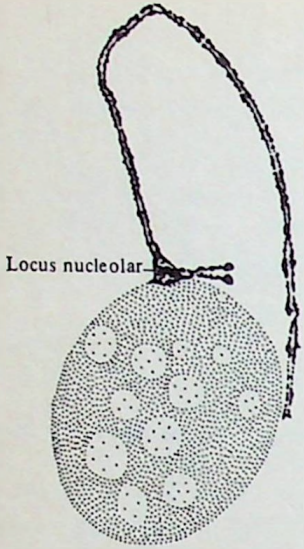
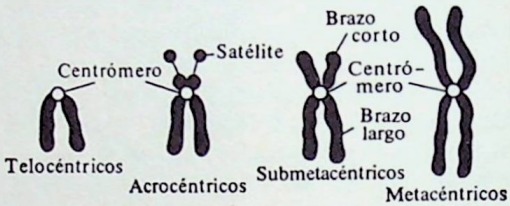


Fig. 5. Sexto cromosoma del maíz en la profase de la meiosis

El locus nucleolar del crosoma se encuentra ligado al nucléolo grande y esférico (por L. Sharp, 1943)

Fig. 6. Dependencia de la forma del cromosoma en la metafase, de la posición del centrómero



Los cromosomas con otra posición de los centrómeros, tienen los brazos desiguales denominándose submetacéntricos o subtelocéntricos.

Diferentes cromosomas contienen locus nucleolar u organizador nucleolar (fig. 6). El nucléolo formado por este locus contiene RNA, histonas, enzimas, y otras sustancias. El locus nucleolar se denomina también constricción secundaria. La porción distal de los cromosomas, que se encuentra detrás del locus, se denomina satélite. El ser humano posee satélites en 5 parejas de cromosomas, formándose como resultado 10 nucléolos.

En la vida del núcleo y la célula en general, es de una gran importancia la autorreproducción de los cromosomas. La información genética de las dos células hijas, que surgen mediante la división de una materna, debe contener su valor íntegro, lo que puede alcanzarse sólo al reproducir las estructuras moleculares de los cromosomas iniciales en las dos células hijas, lo que ocurre mediante su autorreproducción. Este fenómeno ocurre en el período intermedio de la interfase que recibe el nombre de fase de la síntesis del DNA. Después de la autorreproducción, en el lugar de cada cromosoma aparece una pareja, que temporalmente, hasta el momento de la división del núcleo, está ligada al centrómero. Estos cromosomas hijos, que son completamente independientes, pero aún no se han separado uno del otro, se han denominado cromátidas. Las parejas de cromátidas son apreciables en todas las fases de la mitosis y en particular, con más claridad cuando ocurre la metafase. El estudio de la individualidad de cada uno de los

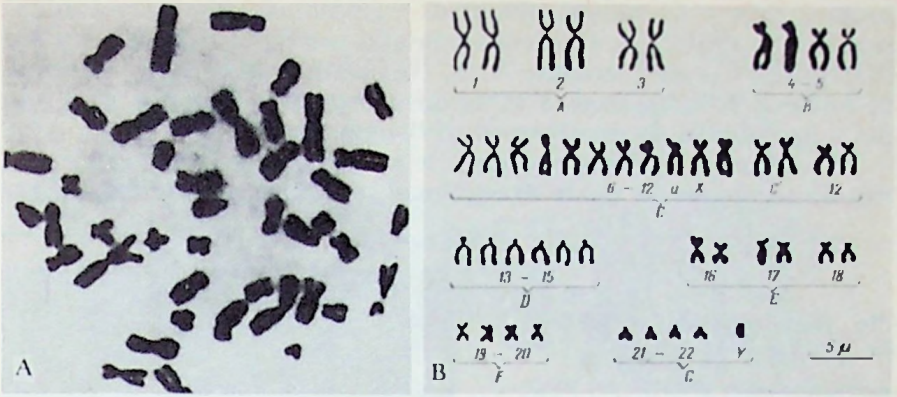


Fig. 7. Cromosomas humanos

A—el núcleo contiene 46 cromosomas; *B*—cariograma del ser humano, *X* e *Y*, cromosomas sexuales

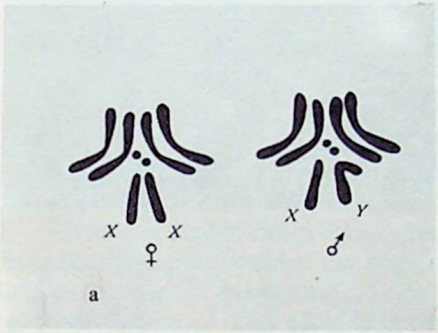


Fig. 8. Cromosomas de *Drosophila melanogaster*

a—tres parejas de autosomas y una pareja de cromosomas sexuales *XX* de la hembra; tres parejas de autosomas y una pareja de cromosomas sexuales *XY* del macho; *b*—cromosoma de la hembra de la *Drosophila* tomado de la célula del ganglio nervioso (por E. Lewis)

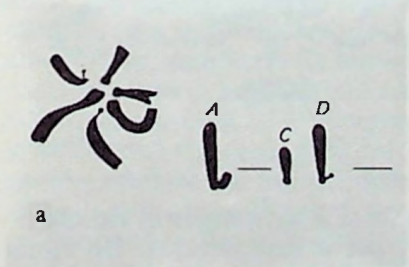


Fig. 9. Dotación cromosómica de la panta *Crepis capillaris*

a—número haploide y diploide (por M. S. Navashin) *b*—placa metafásica

cromosomas y de todo el número de cromosomas, que ha recibido el nombre de cariotipo, fue fundamentado por S. G. Navashin y sus discípulos: G. A. Levitski, A. S. Navashin y otros. En realidad, el número de cromosomas caracteriza específicamente a la célula de cada especie de organismos vivientes (fig. 7-9).

En algunos tejidos y órganos, los cromosomas tienen ampliadas sus dimensiones de modo excepcional y cambian su forma lo que

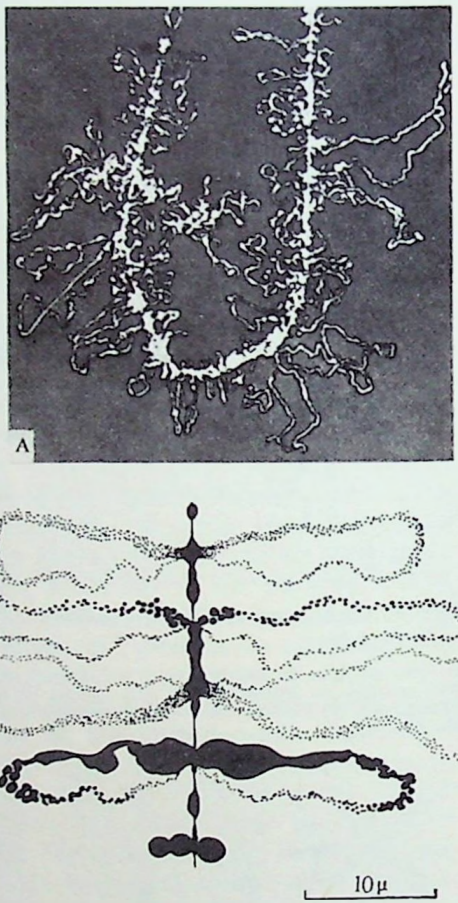


Fig. 10. Cromosomas del tipo de cepillos de lámparas

A—en el ovocito primario del tritón (se observa el eje central del cual parten las asas); *B*—el detalle de *A* se observa que las asas son cromosomas desenrollados. Las moléculas de DNA son la base del cromosoma. Con color negro se muestra la distribución de la síntesis del RNA en las asas de los cromosomas del tipo de cepillos de lámparas (según J. Gall)

permite observar en detalles su estructura e investigar el funcionamiento de éstos histoquímicamente y por otros métodos. Un ejemplo característico de ello, son los cromosomas gigantes de los ovocitos primarios de los vertebrados, que pueden alcanzar una longitud de 800 μ. Estos cromosomas recibieron el nombre «plumulados» o de cepillo de lámparas (fig. 10). Cada asa de este tipo de cromosoma, es un cromómero desespiralizado. En la fig. 10 *b*

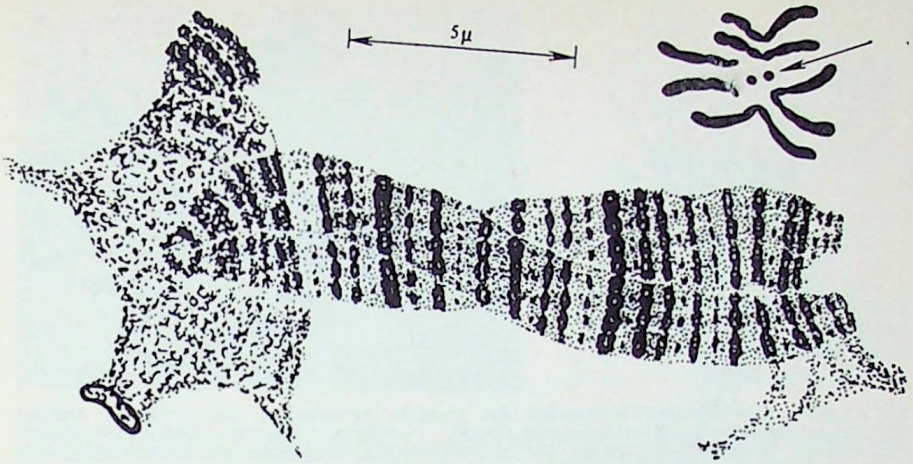


Fig. 11. Microcromosoma (indicado por una flecha) de la *Drosophila* en la célula de un ganglio nervioso y el mismo cromosoma convertido en un cromosoma gigante en el núcleo de la célula de la glándula salival (según C. B. Bridges, 1935)

se muestra el funcionamiento de los cromosomas que se manifiesta en la síntesis de RNA.

Otro ejemplo magnífico que demuestra la dependencia de la forma del cromosoma de sus funciones, es el de los cromosomas gigantes detectados en una serie de órganos de los dípteros y en primer lugar en sus glándulas salivales. Los cromosomas gigántes se forman debido a que las cromátidas que surgen en una serie de síntesis sucesivas de DNA, no se separan, sino que se mantienen juntas íntimamente asociadas. La división de cromosomas, sin que éstos sean separados, recibe el nombre de endomitosis. Estos núcleos endomitóticos los contienen los cromosomas gigantes politénicos que tienen una estructura característica que se aprecia con detalle. En las células de las glándulas salivales de larvas de *Drosophila*, una serie de síntesis de DNA sin separación de cromátidas, conduce a la formación de cromosomas que contienen 1000—2000 cromátidas. La proporción entre las dimensiones, formas y estructuras internas de los cromosomas comunes y sus análogos en los núcleos de las células de las glándulas salivales de *Drosophila* aparecen reflejados en la fig. 11. Con un mismo aumento podemos observar el microcromosoma (cuarto cromosoma) en forma de un punto en las ovogonias y el inmenso microcromosoma en la célula de la glándula salival. El rayado del cromosoma gigante que está relacionado con la presencia de discos de coloración oscura (acumulación de DNA), surge debido a la unión de cromómeros homólogos de todas las cromátidas hijas. La dispo-

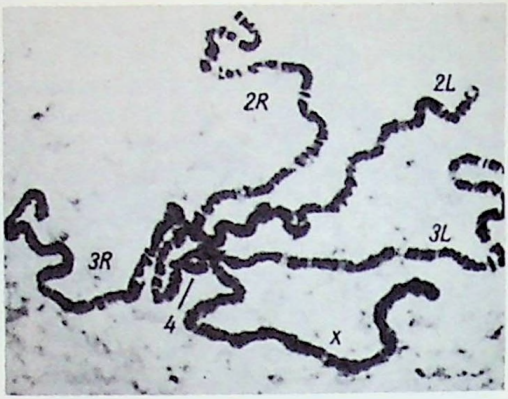


Fig. 12. Cromosomas de la hembra de *D. melanogaster* en la célula de la glándula salival de una larva

2*L* y 2*R*—brazos izquierdo y derecho del segundo cromosoma; 3*L* y 3*R*—lo mismo del tercer cromosoma; *X*—cromosoma sexual; 4—microcromosoma. Los brazos de los cromosomas se encuentran unidos por el cromocentro, compuesto por partes heterocromáticas (según B. Kaufman, 1939)

sición de los discos y el dibujo de los cromosomas es idéntico en todos los individuos y en todos los tejidos (donde son detectados) de un mismo organismo. La sustancia que contiene el cromosoma se acostumbra a denominar cromatina. El estudio de los cromosomas muestra la existencia de dos tipos de cromatina en la composición cromosómica, que son la eucromatina y la heterocromatina. En los cromosomas gigantes la eucromatina está representada por zonas bien delimitadas de cromosomas con el dibujo de los discos (fig. 12). A la par con esto, puede observarse que algunas porciones de cromosomas, situadas comúnmente en las zonas del centrómero en células de las glándulas salivales, se condensan, tomando una tonalidad oscura llenándose de burbujas. Estas zonas de cromosomas han recibido la denominación de heterocromáticas. En los núcleos de células de las glándulas salivales la heterocromatina de diferentes cromosomas, frecuentemente se une, formando el llamado cromocentro (véase fig. 12). En algunos casos ciertos cromosomas pueden estar compuestos exclusivamente de heterocromatina.

El rasgo más característico de la estructura de los núcleos de las células somáticas de una inmensa mayoría de las especies es el hecho de que los cromosomas se encuentran en pares. Cada uno de los cromosomas tiene en el núcleo su homólogo. En el ser humano 46 cromosomas se representan por 23 pares, en la *Drosophila* 8 forman 4 pares, en el trigo 42 constituyen 21 pares, en el maíz existen 10 pares de cromosomas, etc. La esencia de los cromosomas homólogos reside en que uno de ellos, el organismo lo obtiene de la madre y el otro, del padre. La fig. 13 ofrece un esquema de la estructura de los cuatro pares de cromosomas en *Drosophila*, teniendo en cuenta los elementos básicos de su organi-

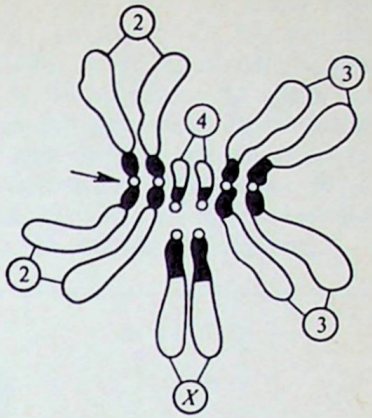


Fig. 13. Estructura esquemática de un cromosoma de *Drosophila*

Flecha—centrómero de un cromosoma. Color blanco—eucromatina; color negro—heterocromatina; *X*—cromosomas sexuales; 2, 3, 4—tres pares de autosomas

zación. En la composición de éstos se encuentra un par de cromosomas sexuales (*X*), que determinan el sexo de la hembra y tres pares de autosomas, que a menudo se indican con las cifras 2, 3 y 4. En la fig. 14 está representada la organización de 10 cromosomas diferentes en el maíz.

A pesar de tan compleja organización de los cromosomas se ha demostrado que el substrato principal, en el cual se grabó la información genética de los organismos vivientes, esté formado por zonas eucromáticas de los cromosomas. El gene es la unidad elemental de la herencia, en la eucromatina se encuentra el número mayor de genes de una célula dada. Está bien claro, que la alteración de la estructura molecular del DNA de la eucromatina (genes) conlleva a la aparición de nuevas formas de la información genética, o sea, de nuevas estructuras moleculares dentro de la base material de la herencia. La importancia de la heterocromatina, evidentemente, es muy considerable, sin embargo, hasta el momento su función en muchos aspectos sigue siendo un enigma.

La estructura de los cromosomas también sufre alteraciones. Se alteran su forma y número. Las modificaciones químicas de los genes, las variaciones en la estructura o en el número de cromosomas han recibido la denominación de mutaciones.

CICLO VITAL DE LA CÉLULA Y MITOSIS. Por ciclo vital se entiende el tiempo de vida desde una generación hasta la aparición de la siguiente.

El ciclo vital de los virus está relacionado con la introducción de éstos en la célula, donde ocurre la reproducción de los mismos. Alrededor del 50% del peso de una partícula del fago *T2* está representado por proteínas y el 50% restante, por moléculas

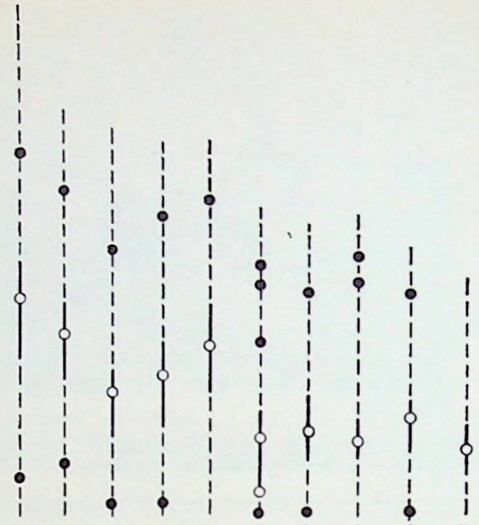


Fig. 14. Estructura esquemática de los cromosomas de la dotación haploide en el maíz

Se muestra la proporción de las longitudes relativas de una decena de cromosomas, la posición del centrómero (círculos blancos), constricciones secundarias (círculos negros), locus nucleolar en el sexto cromosoma (círculo sombreado). Las partes heterocromáticas se representan por líneas continuas, y las eucromáticas por líneas de trazo (según M. Rhoades)

de DNA. La partícula del fago se adhiere a la célula bacteriana e inyecta una molécula de DNA al citoplasma de ésta. Al aprovechar los recursos de las bacterias, los virus en este sentido son organismos puramente parasitarios, la molécula de DNA se multiplica y al pasar aproximadamente 20 minutos origina varios centenares de partículas de fago, compuestas por DNA y proteínas. La célula bacteriana infectada se rompe y muere (lisis). Las partículas de fago que se liberan pueden infectar nuevas células bacterianas (fig. 15).

El ciclo vital de las bacterias tiene una duración que abarca el período entre una división y la otra. Durante este tiempo ocurren procesos complejos de metabolismo de la célula y la duplicación en ellas de las moléculas de DNA. El metabolismo de muchas bacterias está basado en que éstas son protótrofas, o sea, células capaces de sintetizar los compuestos orgánicos a partir de materia prima simple. Así, el colibacilo, *Escherichia coli*, crece en una solución acuosa que sólo contiene glucosa y algunas sales inorgánicas. La composición de este medio es el siguiente: 1 litro de agua, 4,0 g de glucosa, 6,0 g Na_2HPO_4, 3,0 g de KH_2PO_4, 1,0 g de NH_2Cl y 0,13 g de $MgSO_4$.

La *E. coli* es uno de los objetos genéticos más estudiados. Su célula tiene forma de bastón de alrededor de 2 micras de longi-

tud y 1 micra de ancho. La célula de *E. coli* se compone aproximadamente de 2000 proteínas diferentes. 600—800 de éstas son compuestos conocidos. De esta manera, alrededor de 1/4 de las reacciones metabólicas, ya se ha estudiado. A 37 °C la célula del colibacilo se duplica en el transcurso de 60 minutos. Al enriquecerse el medio con aminoácidos y bases nitrogenadas, la división ocurre durante 20 minutos. Pasado este tiempo se efectúa la síntesis aproximadamente de 2000 proteínas diferentes. Esto demuestra el gigantesco trabajo que realiza el metabolismo guiado por el programa genético en la célula bacteriana.

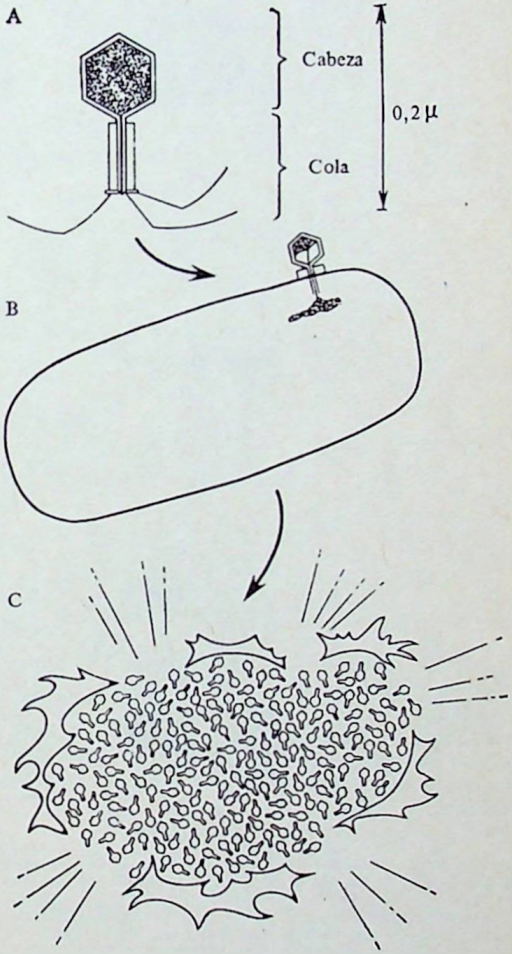


Fig. 15. Ciclo biológico de un bacteriófago, tomando como ejemplo el fago *T2*

A—partícula madura del fago; *B*—fijación del fago a la superficie, la cola pasa a través de la envoltura celular, introducción del DNA del fago al interior de la bacteria; *C*—lisis de la célula bacteriana, de la cual salen cientos de descendientes de la molécula de DNA introducida. A 37° C, la lisis ocurre después de pasar 20 min de la infección del fago

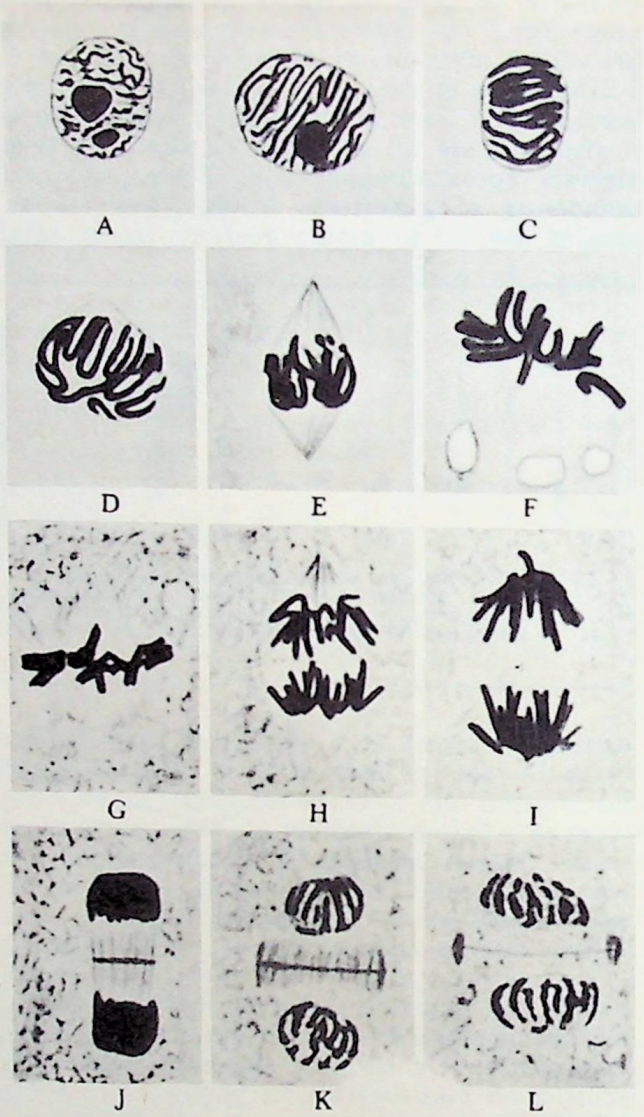


Fig. 16. División mitótica de la célula (mitosis en el extremo de la radícula de la cebolla *Allium cepa*)

A—interfase, todos los cromosomas se encuentran desespiralizados. En la fase de la síntesis del DNA (fase *S*) ocurre la autorreproducción de los cromosomas; *B*, *C*, *D*, *E*—profase de la mitosis, cada cromosoma está representado por dos cromátidas, tiene lugar la condensación de los cromosomas mediante su empaque y espiralización, desaparece la membrana nuclear y surge el huso de la división (*E*); *F*, *G*—metafase, los cromosomas se disponen en el plano ecuatorial, dos cromátidas en cada cromosoma aún están unidas por el centrómero; *H*, *I*—anafase, separación de los nuevos cromosomas (antiguas cromátidas) después de la división del centrómero; *J*—telofase, comienza a formarse una pared celular entre las dos células hijas; *K*, *L*—formación de las dos células hijas con igual número de cromosomas

Las dimensiones de las poblaciones, que forman las bacterias que se reproducen, son inmensas, lo que permite llevar a cabo, como observaremos posteriormente, investigaciones minuciosas de la genética de las mismas. Si admitimos que las bacterias se duplican cada 40 minutos, entonces al cabo de 7 horas ocurrirá un aumento de la población inicial en más de mil veces. Transcurridas 22 horas, una célula bacteriana inicial creará una población de más de 10 mil millones de individuos. La terminación del ciclo celular de la bacteria consiste en que su célula se estira y luego se divide en dos. Antes de esto ocurre la síntesis del DNA y las dos moléculas hijas de DNA se separan en dos células hijas.

El ciclo celular posee un carácter más complejo para las eucariotas. En este caso el lapso entre las dos divisiones está ligado al proceso metabólico y a otros que transcurren en el núcleo celular. El proceso de división nuclear, después del cual los núcleos hijos se distribuyen por las células hijas, recibió el nombre de mitosis. El estado entre las mitosis fue denominado interfase. Al igual que esta última, la mitosis está dividida en una serie de fases más breves que transcurren una en sucesión de la otra (fig. 16).

Al finalizar la profase la membrana nuclear desaparece y los cromosomas descansan directamente en el citoplasma. En este último surge el aparato de la mitosis, compuesto por dos centrosomas (en las células animales), una en cada polo de la célula y los filamentos del huso que unen los centrosomas con los centrómeros del cromosoma. Durante la metafase los centrómeros se dividen y cada una de las cromátidas se desliza por los filamentos del huso hacia polos opuestos de la célula. Así comienza la anafase. En la telofase que es la fase final de la mitosis, los filamentos del huso desaparecen y en cada célula hija se forma un núcleo completo. Aparece la membrana nuclear, y los cromosomas comienzan a desenrrollarse. El citoplasma se divide en dos partes. Los procesos de la división de la célula en general reciben el nombre de citocinesis. Antiguamente la interfase se llamaba fase de reposo del núcleo, sobrentendiendo que en este período el núcleo no sufre división y metabólicamente es inerte. Sin embargo, ahora se ha esclarecido, que durante la interfase, el núcleo se encuentra en el estado superior de actividad metabólica y de síntesis, por ello, el término «núcleo en reposo» no se justifica. Durante la interfase aparece la acción de los genes, a la vez se sintetizan las moléculas de RNA mensajero, ocurre la síntesis del DNA, etc. La interfase comienza con un largo período que se ha denominado fase anterior a la síntesis (fase G_1). En ésta transcurren los procesos de funcionamiento de los genes, como también los procesos preparatorios para la síntesis posterior del DNA. El punto central de la interfase con relación a la autorreproducción de los cromosomas, es la fase de la síntesis (fase S). El análisis citofotométrico mostró que la esencia de la autorreproducción de los cromosomas reside en la síntesis de DNA. En este período la cantidad de DNA en la célula

se duplica y en lugar de un cromosoma aparecen dos cromátidas. La síntesis de las proteínas, que entran en la composición del nucleoproteido cromosómico, resulta más prolongada. La síntesis del DNA no transcurre al mismo tiempo en todos los cromosomas, ni en porciones de los mismos. Existe cierto asincronismo en estos procesos.

En la medida en que concluye la síntesis el núcleo de formación diploide, que era característica para toda la fase G_1, se transforma en tetraploide. La aparición de dos cromátidas asegura la duplicación del número de cromosomas en el núcleo. En este estado tetraploídico los cromosomas de la fase S pasan a su fase subsiguiente (fase G_2), donde comienza la preparación para la futura mitosis a través de los procesos de empaque y espiralización de los cromosomas.

Cada cromosoma entra en la mitosis ya dividido en dos cromátidas, por esto durante la división celular sólo ocurre la distribución de las cromátidas en las células hijas. La mitosis consta de cuatro fases: profase, que ocupa un promedio de 0,60 del tiempo de toda la fase M; la metafase, 0,05; la anafase 0,052 y la telofase, 0,30. La prolongación de la mitosis M es diferente en las distintas células, pero comúnmente ésta dura no menos de 10 minutos.

La transición de la interfase a la metafase se caracteriza por la espiralización acelerada y empaque de los cromosomas. La importancia de dichos procesos puede mostrarse en el ejemplo de los cromosomas humanos. M. Sasaki y A. Norman en el año 1966 lograron separar un cromosoma desespiralizado interfásico del núcleo celular humano. La longitud del cromosoma citado resultó inmensa, de 7,5 cm. Esto muestra el poder excepcional de los procesos funcionales en la célula, vinculado a la actividad de los genes, o sea, a las moléculas de DNA. Sin embargo, es imposible transmitir este filamento en las condiciones de la división celular en la célula hija, el cromosoma debe adoptar la forma y el tamaño que responda a la tarea de la mitosis, para que en forma de cromátida pasar de la célula inicial a la hija. La transformación del cromosoma interfásico, que ocurre en el transcurso de toda la profase de la mitosis, se realiza mediante los procesos complejos de empaque y espiralización, como resultado, el cromosoma más grande de cariotipo humano se torna igual a 6—8 μ. De esta manera, se produce el acortamiento de la longitud de los cromosomas en 10 000 veces. En la profase, los cromosomas aparecen como estructuras con formaciones acabadas. En la metafase todos los cromosomas adoptan su forma individualizada y es entonces, cuando se disponen en la placa ecuatorial, encontrándose aún los cromátidas unidas con los centrómeros.

En los procesos de la mutagénesis ocurren alteraciones en la estructura cromosómica que conllevan a la pérdida de los centrómeros, o por el contrario, a la existencia de dos centrómeros en un cromosoma. En el primer caso aparece un cromosoma acéntrico

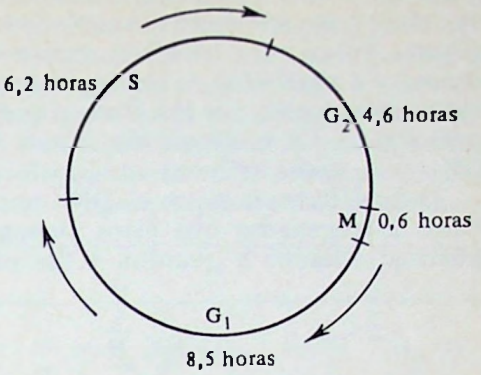


Fig. 17. Ciclo celular en un cultivo de células cancerosas del ser humano (*HeLa*)

(fragmento). Al dividirse la célula, los fragmentos caen en el citoplasma y se destruyen por lisis. En el segundo caso aparece un cromosoma dicéntrico, cada uno de sus centrómeros se dirige hacia los polos opuestos. El cromosoma dicéntrico se extiende entre los polos de la célula, formando el llamado puente. Posteriormente, al concluir la mitosis se produce la ruptura del puente y la destrucción del cromosoma. De esta forma, el cromosoma que funciona normalmente posee un centrómero.

La duración del ciclo celular es distinta en diferentes sistemas celulares, pero es muy constante para un tejido dado. Por ejemplo, en el cultivo de células cancerosas humanas, la duración de la fase G_1 es de 8,5 horas, la S, 6,2, y la G_2, 4,6 horas. La duración de la mitosis (fase M) es solamente de 0,6 horas. De esta manera, el ciclo celular en su totalidad dura 19,9 horas (fig. 17).

FUNDAMENTOS QUÍMICOS DE LA HERENCIA. La historia de la cuestión acerca de los fundamentos químicos de la herencia comenzó en el año 1869, cuando F. Miescher aisló de los núcleos de las células una sustancia singular, que poseía propiedades ácidas y que fue denominada por él nucleína. La nucleína contenía gran cantidad de fósforo. En el año 1889, R. Altmann introdujo el término de ácido nucleico. A partir del año 1879 A. Kossel comenzó a realizar investigaciones sobre la química de la nucleína demostrando que en la composición de éste, además del ácido fosfórico, entraban purinas y pirimidinas (bases nitrogenadas), como también componentes de carbohidratos. Fueron detectadas cuatro bases nitrogenadas, dos purinas: adenina y guanina y dos pirimidinas: timina y citosina. En los trabajos de los años 1900—1932, A. Levine, explicó los principios químicos principales de la estructura de los azúcares de ácidos nucleicos, que se diferencian de la glucosa, fructosa y galactosa en que contienen cinco átomos de carbono en lugar de seis. El descubrió que un grupo de azúcares de los ácidos nucleicos con-

tiene un átomo de oxígeno menos. A. Levine denominó el grupo de ácidos con este tipo de azúcar, desoxirribosa, y el segundo grupo, ribosa. Sobre esta base los primeros ácidos fueron denominados desoxirribonucleicos y los segundos, ribonucleicos. Estos azúcares se diferencian por los átomos que se adicionan al carbono en la posición 2. La molécula de ribosa posee en este lugar un grupo OH y la desoxirribosa, un átomo H (fig. 18).

Otra diferencia entre el DNA y el RNA radica en los tipos de bases nitrogenadas que éstos poseen. El DNA contiene dos bases púricas: adenina y guanina y dos pirimídicas: citosina y timina

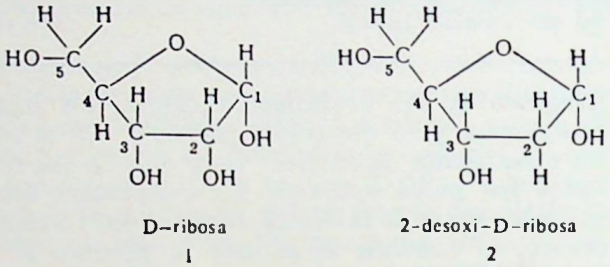


Fig. 18. Azúcares que entran en la composición de las moléculas de RNA (*1*) y del DNA (*2*)

(fig. 19). En las moléculas de RNA la timina está sustituida por el uracilo. Cada base nitrogenada, ligada a la ribosa o a la desoxirribosa recibe el nombre de nucleósido. Cuando al nucleósido, además, se adiciona un residuo del ácido fosfórico surge un nucleótido. Los nucleósidos en relación con las bases que contienen, se denominan citidina, timidina, uridina, adenosina y guanosina. Los nucleótidos correspondientes se llaman ácidos citidílico, timidílico, uridílico, adenílico y guanílico.

En el año 1924, R. Feulgen elaboró los métodos de reconocimiento citológico del DNA y RNA. Resultó que la fucsina se une selectivamente con el DNA. Anteriormente se consideraba que el DNA era propiedad exclusiva de las células animales. Feulgen detectó DNA en los núcleos de las células vegetales demostrando citológicamente, que el DNA está localizado en los núcleos celulares y el RNA, en el citoplasma. En el año 1936, el DNA fue extraído en forma pura de los núcleos de las plantas por A. N. Belozerski e I. I. Dubrovskaia. En 1934 T. Caspersson, demostró la relación entre las moléculas de DNA y los cromosomas, utilizando la capacidad de este ácido de absorber la luz ultravioleta. E. Hammarsten y T. Caspersson descubrieron que las moléculas de DNA poseen un gran peso molecular (~500 000), superando el peso de las moléculas de la proteína. Al mismo tiempo W. M. Stanley, F. C. Bawden y N. W. Pirie, al analizar los virus

vegetales, llegaron a la conclusión de que todos éstos contienen ácido nucleico. A la luz de esto, ellos consideraron posible concederles a los ácidos nucleicos la importancia del material genético.

En la historia de esta cuestión un papel singular jugó la investigación de la naturaleza del fenómeno de la transformación, descubierto en el año 1928 por F. Griffith. El estableció que entre los neumococos existen dos tipos de bacterias; con colonias «lisas», que provocan la neumonía y con «rugosas» que no son patógenas.

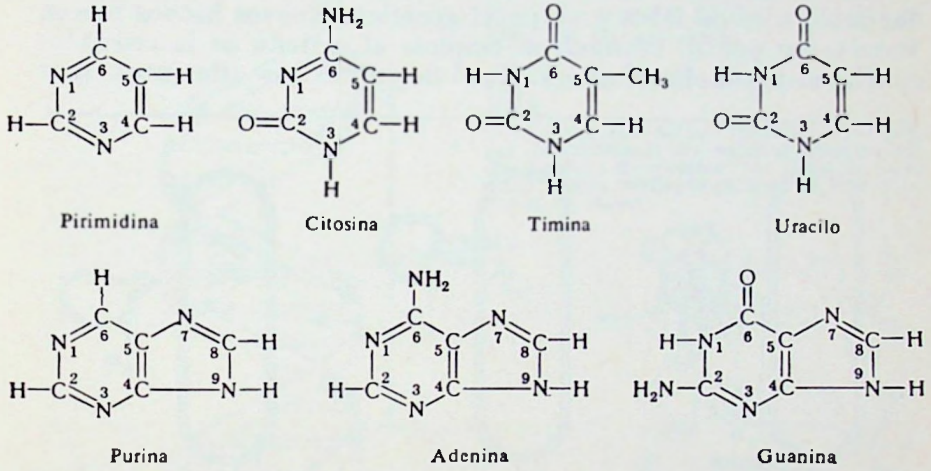


Fig. 19. Bases pirimídicas y púricas (nitrogenadas) que entran en la composición de las moléculas de DNA (citosina, timina, adenina y guanina) y de RNA (citosina, uracilo, adenina y guanina)

Griffith mezcló bacterias vivas que formaban colonias «rugosas», con células muertas que provocaban la enfermedad e introdujo la mezcla obtenida a un ratón. Resultó ser que las células vivas de las colonias «rugosas» bajo la influencia de las sustancias de las células patógenas muertas, adquirieron sus propiedades.

En el año 1931, H. Dawson y J. L. Alloway repitieron el experimiento de Griffith en las condiciones de un tubo de ensayo. Partiendo de estos experimentos O. T. Avery, C. M. MacLeod y M. McCarty en 1944 estudiaron sistemáticamente el rol de las diferentes sustancias celulares en los fenómenos de la transformación. Quedó demostrado que los polisacáridos de la envoltura de los neumococos, no producen el fenómeno de la transformación. Lo mismo sucedió en el caso de las proteínas de las células. La transformación era producida por las moléculas de DNA. El DNA destruido tampoco producía la transformación. Estos experimentos demostraron que las características genéticas de las bacterias están ligadas al fenómeno de la transformación, que es

la propiedad de las moléculas del DNA con alto peso molecular.

En el año 1945, R. D. Hotchkiss estableció un hecho importante que concernía a la naturaleza del fenómeno de la transformación. Demostró que las moléculas del DNA al pasar de las células bacterianas «lisas» destruidas, a las células «rugosas» vivas se integran al aparato genético de las mismas. En las células transformadas, las moléculas del DNA introducidas, se convierten en uno de los componentes integrantes de las moléculas del DNA de la célula recipiente.

Estos descubrimientos estimularon un profundo interés hacia las moléculas de DNA y su papel genético. Nuevos hechos fueron detectados por E. Chargaff al emplear el método de la cromatografía en papel. En el año 1947, él descubrió que diferentes tipos

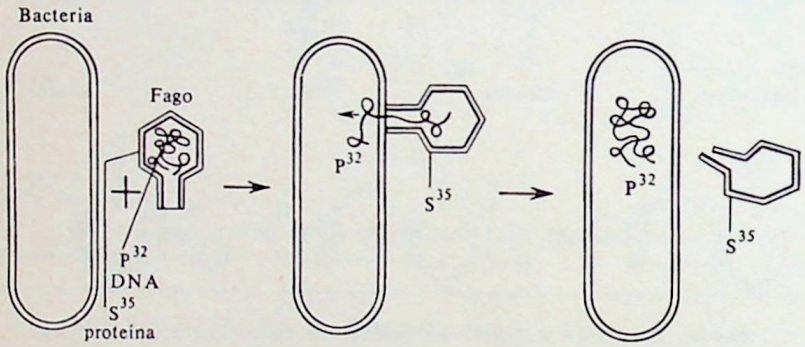


Fig. 20. Demostración del intercambio de la información genética en la molécula de DNA del fago, según experimentos realizados por A. Hershey y M. Chase (1952)

La molécula de DNA que se encuentra en la cabeza del fago se marca con fósforo radiactivo (P^{32}) y la proteína de la envoltura con azufre radiactivo (S^{35})

de organismos se caracterizan por poseer distintas proporciones cuantitativas de las bases púricas y pirimídicas. Esto marcó una posición en principio nueva e importante que estipulaba, que la especificidad genética puede estar ligada a la composición de los nucleótidos en la molécula de DNA.

El segundo descubrimiento de gran importancia realizado por E. Chargaff, fue que la proporción de las bases nitrogenadas en las moléculas del DNA no era casual. Resultó ser que en un fragmento dado de DNA, la cantidad de timinas es igual a la cantidad de adeninas, y que el número de guaninas es igual al de citosinas. La significación de este principio de apareamiento de las bases, se esclareció posteriormente, al descubrirse la estructura tridimensional de la molécula del DNA.

En 1952, la cuestión de la importancia genética de las moléculas del DNA fue investigada por A. D. Hershey y M. Chase,

en experimentos con bacteriófagos. Marcaron la proteína del fago con el azufre radiactivo (S^{35}), y el DNA, con el fósforo radiactivo (P^{32}). El análisis demostró que en las células bacterianas se introduce la molécula de DNA, y la membrana proteica del fago queda en el exterior (fig. 20). Evidentemente, las moléculas de DNA que penetran en la bacteria, son responsables de la reprodución de las partículas del virus en ésa. Estos experimentos, después de los datos ofrecidos por O. T. Avery y otros, demostraron que la

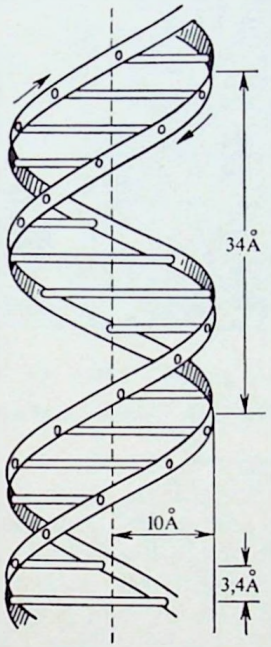
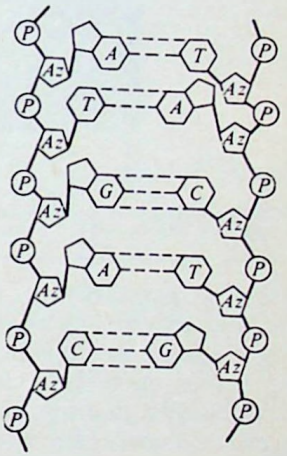


Fig. 21. Modelo de la molécula de DNA de espiral doble

Fig. 22. Estructura de la molécula de DNA

P—residuo del ácido fosfórico; *Az*—azúcar desoxirribosa; *A*—adenina; *T*—timina; *G*—guanina; *C*—citosina, los pares de bases están unidas mediante enlaces de hidrógeno (línea de trazo)



información genética está ligada a las moléculas de DNA. Esto determinó el creciente interés por la esencia física, bioquímica y genética de éstas moléculas.

En el año 1953, J. L. Watson y F. Crick, empleando los datos de Chargaff, el material de análisis roentgenoestructural, los principios de la teoría del gene y el papel de los datos analíticos, crearon el modelo de la estructura macromolecular del DNA. De acuerdo con este modelo, la molécula del DNA consta de dos cadenas polinucleotídicas enrolladas mutuamente una alrededor de la otra (fig. 21). Cada uno de los nucleótidos constituye monómero del polinucleótido. El esqueleto de cada polinucleótido se compone de residuos del ácido fosfórico y de azúcares alternados. Por cada 3,4 Å de la cadena de polinucleótidos, corresponde un residuo nucleotídico. En el interior de la espiral doble se orientan las

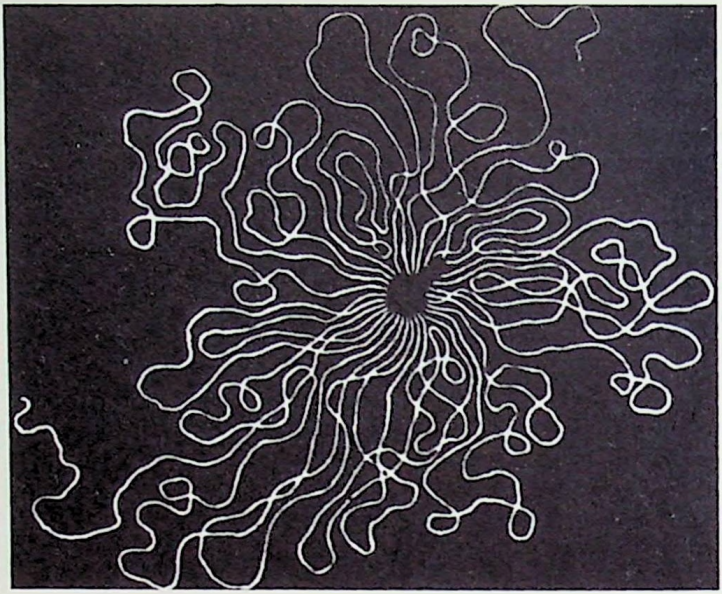


Fig. 23. Filamento de DNA de la cabeza de un virus bacteriano (bacteriófago)

Arriba y abajo a la derecha, se observan los dos extremos de la larga molécula de DNA (según A. Kleinschmidt y otros)

bases nitrogenadas. Toda molécula se caracteriza por la obligatoria oposición de sus bases: timina —adenina y citosina— guanina, que se encuentran unidas por enlaces de hidrógeno (fig. 22). El enlace entre la pareja $A-T$, es más débil que entre la pareja $G-C$. Cada par nucleotídico está girada en 36° con relación a su vecino, como resultado de esto 10 pares nucleotídicos consecutivos forman una vuelta de la espiral. La molécula del DNA en su

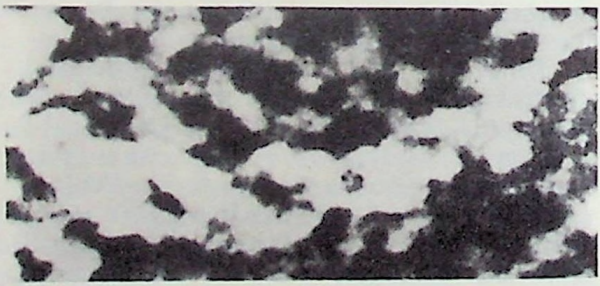


Fig. 24. Molécula de DNA de espiral doble aumentada 7 300 000 veces (lista de la Universidad de California, 1969)

conjunto, es una estructura polimérica extendida linealmente con una actividad biológica superior. En la fig. 23 está representada una molécula del DNA liberada mediante un choque osmótico de la cabeza del bacteriófago T2. Esta molécula posee una longitud de 50 μ, su peso molecular es de 130 000 000. La fig. 24 se presenta una microfotografía electrónica, en la que puede observarse claramente la doble espiral en la estructura de una molécula nativa del DNA.

El modelo de Watson—Crick contenía los enfoques para la investigación de los fenómenos genéticos más importantes. El carácter específico de la disposición mutua de las bases nitrogenadas, comenzó a tratarse como el código genético, el análisis de las variaciones químicas en la composición de los nucleótidos sirvió de base a la teoría molecular de las mutaciones, y la estructura doble de moléculas del DNA explicó los principios de autoduplicación de las moléculas mediante síntesis sobre la matriz. Tomando como fundamento los principios de la estructura y la importancia genética de los diferentes elementos en la macromolécula del DNA, comenzó el desarrollo moderno de la Genética molecular y de la Biología molecular general.

Preguntas para discutir

1-1. ¿En qué reside la diferencia entre lo animado y lo inanimado?

1-2. ¿Qué es la herencia?

1-3. Describa las diferencias fundamentales entre la reproducción sexual y la asexual.

1-4. ¿Qué es un cigoto y un gameto?

1-5. ¿En qué consiste la base de la teoría celular?

1-6. ¿Son organismos vivos los virus?

1-7. ¿Qué es la autorreproducción?

1-8. Indique la composicón química de la célula.

1-9. Describa los principales organelos del citoplasma y sus funciones.

1-10. ¿Qué diferencia existe entre los cromosomas de las eucariotas y procariotas?

1-11. ¿Es invariable el número de cromosomas en las distintas especies? Exponga ejemplos de números cromosómicos.

1-12. ¿Qué es el centrómero, el cromómero, el locus organizador nucleolar y el nucleólo?

1-13. ¿Cuándo y en qué fase del ciclo celular ocurre la autorreproducción de los cromosomas? ¿Qué es una cromátida?

1-14. Defina el concepto de cariotipo.

1-15. ¿Qué son los cromosomas cepillo de lámparas y los cromosomas gigantes politénicos?

1-16. ¿Qué diferencia existe entre las zonas eucromáticas y heterocromáticas del cromosoma?

1-17. Dé la definición de gene y mutación.

1-18. ¿Cuál es el fundamento molecular de los genes?

1-19. Señale las diferencias fundamentales entre las moléculas de DNA y RNA.

II Autorreproducción

Los fenómenos más importantes en los procesos de la reproducción de lo vivo, son la autorreproducción de las estructuras hereditarias y de otras (cromosomas, episomas, plasmidas) y la posterior división de la célula, los cuales están dirigidos de tal manera que las células hijas reciban la información genética completa.

FUNDAMENTOS MOLECULARES DE LA AUTORREPRODUCCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO. En la base de la autorreproducción de los cromosomas descansan los procesos de autoduplicación de las moléculas del DNA, sin los cuales sería imposible reproducir la totalidad de la información genética completa, propia de la célula inicial.

La estructura de las moléculas de DNA, compuestas de dos filamentos crea la posibilidad de la autorreproducción de éstas. De acuerdo con el modelo de Watson—Crick, propuesto en el año 1953, la ruptura del enlace de hidrógeno entre las bases complementarias conlleva a la separación de ambas cadenas polinucleótidas del DNA. Cada una de éstas se convierte en una matriz para la síntesis de una nueva cadena adicional del DNA. Por lo tanto, la primera etapa de la autorreproducción consiste en la divergencia de la molécula doble del DNA en dos polinucleótidos (fig. 25). El proceso de destrenzamiento de esta molécula larga y entrelazada es bastante difícil de realizar. Actualmente se ha expresado el punto de vista de que la molécula se rompe en varias partes, que se destrenzan libremente para después reconstituirse íntegramente. En todo caso de una molécula doble surgen dos matrices compuestas por una sola cadena. Cada una de estas matrices atrae los nucleótidos auxiliares desde el citoplasma, los que se alinean a lo largo de la cadena progenitora uniéndose en una nueva cadena polinucleotídica complementaria. De esta manera, cualquier mitad de la molécula, al replicar una cadena adicional,

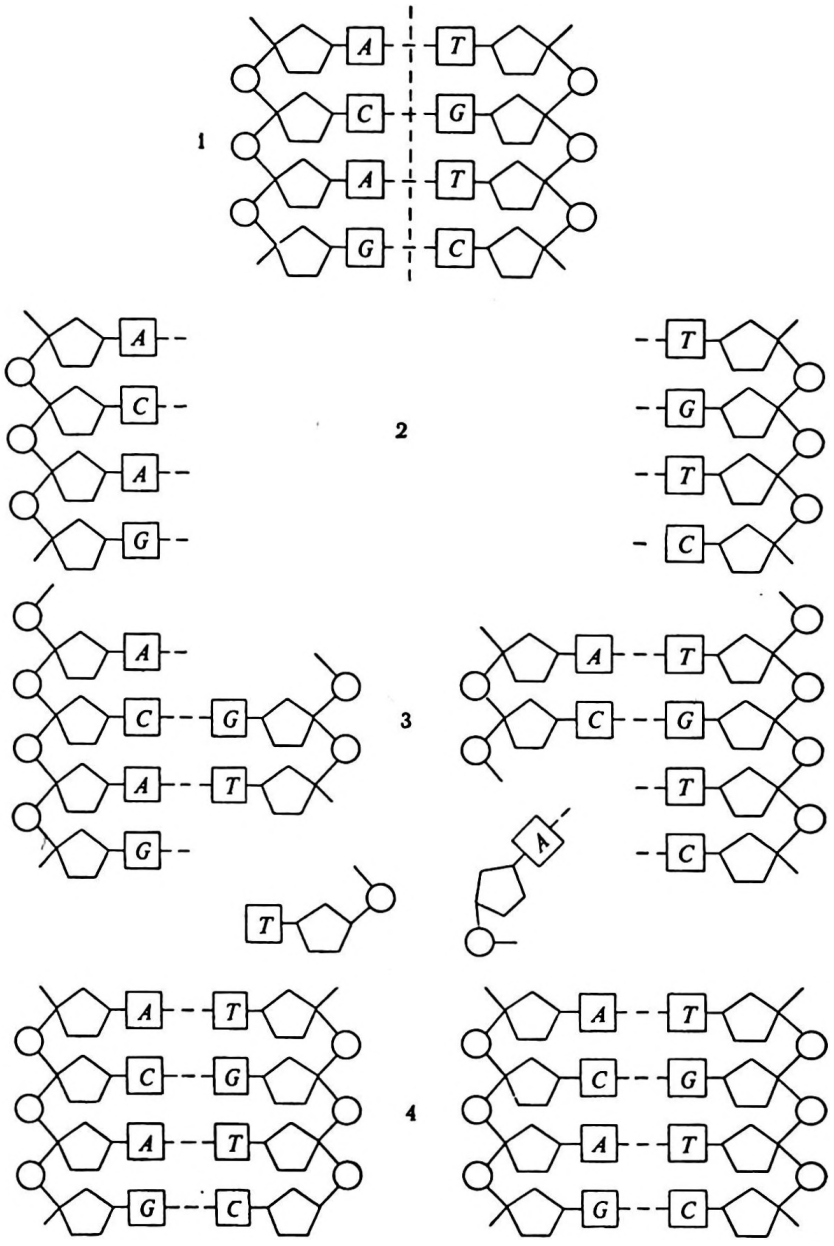


Fig. 25. Duplicación del DNA

1—molécula de cadena doble; *2*—surgimiento de matrices de las dos cadenas simples *3*—adición de los nucleótidos libres; *4*—dos moléculas hijas del DNA. Las letras simbolizan las bases

se restaura en molécula que por sus propiedades se parece a la inicial. Precisamente en esto residen los fundamentos moleculares de la autorreproducción del material genético.

El fenómeno de la descomposición de la molécula doble del DNA en cadenas separadas puede reproducirse experimentalmente. Esto puede lograrse calentando las moléculas hasta alcanzar una temperatura algo inferior a los 100 °C. En estas condiciones ocurre la desnaturalización del DNA descomponiéndose en dos filamentos polinucliotídicos. Si sometemos esta solución a un enfriamiento lento, las cadenas complementarias volverán a formar la espiral doble. En este caso tiene lugar la renaturalización de las moléculas. De la misma forma podemos obtener moléculas híbridas del DNA, si se toman los filamentos polinucleotídicos a partir de diferentes fuentes. Al formarse moléculas de este tipo el carácter de hibridación evidencia el grado de la similitud en el orden de las bases. Las moléculas híbridas del DNA del hombre y de los ratones surgen sólo en una cuarta parte de los casos.

Para que se efectúe la autorreproducción se requieren los procesos de síntesis en el citoplasma, que dan lugar a la formación de cuatro tipos de nucleótidos, de las enzimas, proteínas necesarias para la polimerización de la cadena polinucleotídica, las fuentes de energía, así como la existencia de otras condiciones celulares internas. De esta manera, la autorreproducción de las moléculas del DNA consiste en una amplia interacción con las proteínas, en dependencia de la vida de la célula como un sistema íntegro y de la presencia de condiciones determinadas del medio externo.

Lo sustancial es que en cada autorreproducción el 50% de las moléculas hereditarias se renuevan mediante la síntesis. Analicemos la proporción entre las moléculas de DNA iniciales y las sintetizadas, que restablecen en la nueva estructura información genética primaria, en el transcurso de solamente dos generaciones celulares. En la fig. 26, la molécula original de DNA con dos polinucleótidos está representada por dos espirales blancas. La separación de las cadenas da lugar a dos matrices iniciales para la primera síntesis del DNA. Cada una de estas dos construye a su lado, una nueva mitad de la molécula en forma de cadena polinucleotídica presentada en la fig. 26, con color negro. Por cuanto en la autorreproducción actúa como molde uno de los dos filamentos de la molécula, este tipo de síntesis del DNA ha sido denominado autorreplicación semiconservativa. Apreciamos que en la primera generación celular todas las moléculas de DNA resultaron «híbridas», conteniendo un polinucleótido (blanco) que ha llegado sin alteración desde su progenitora y el segundo sintetizado (negro). Al iniciarse la segunda autorreproducción, se produce la ruptura de los enlaces de hidrógeno, se desenrollan las espirales formando dos matrices: un polinucleótido inicial (blanco) y otro polinucleótido obtenido a través de la síntesis en la

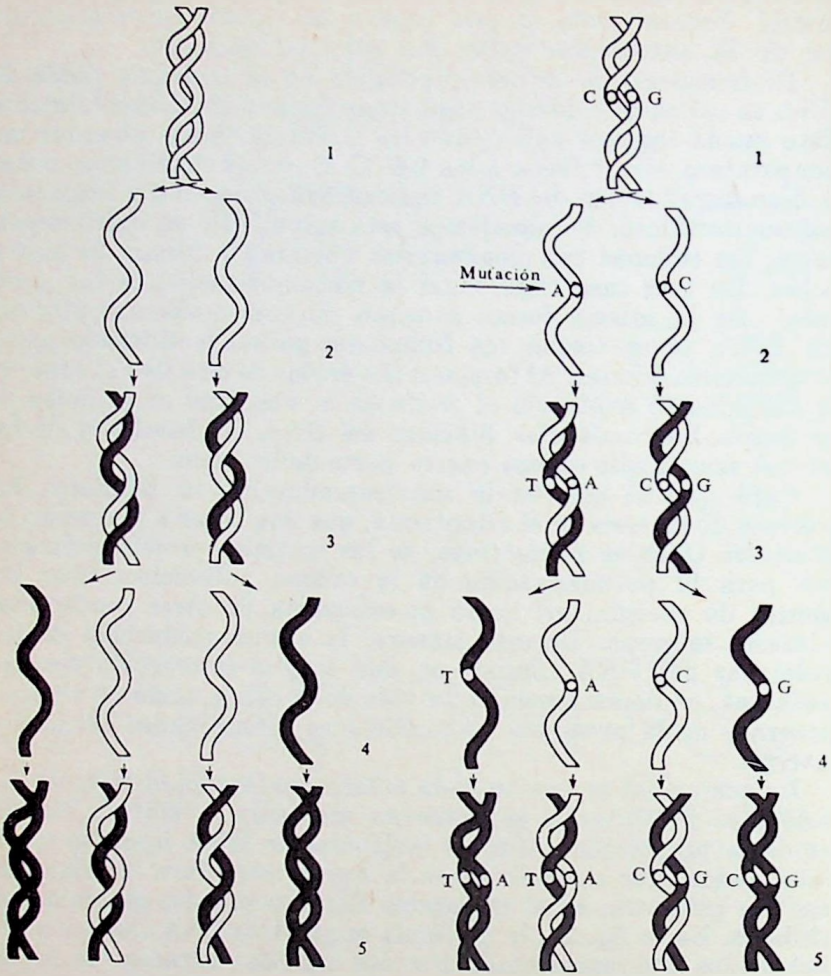


Fig. 26. Autorreproducción a través de la distribución de los filamentos de la molécula inicial y síntesis de nuevas moléculas de DNA

1—molécula inicial de DNA; *2*—dos matrices de cadenas simples; *3*—moléculas hijas compuestas por los filamentos de una molécula progenitora inicial y por el filamento recién sintetizado; *4*—matrices de las cadenas simples; *5*—cuatro moléculas de la segunda generación, que contienen ocho filamentos, dos de los cuales que pertenecen a la molécula inicial y seis a las que acabaron de sintetizarse

Fig. 27. Autorreproducción y mutaciones

1—molécula de DNA progenitora inicial; *2*—matrices de cadenas simples después del destrenzamiento de la molécula inicial. En el filamento portador de la guanina (*G*) surgió una mutación, la base guanina se sustituye por la adenina (*A*), por esto tenemos en lugar de la matriz *G* una nueva matriz *A*; *3*—las moléculas hijas, una de las cuales reproduce a la progenitora y la otra que es resultado de una mutación. Como resultado, la pareja de bases iniciales *C*—*G* se sustituye por la pareja *T*—*A*; *4*—matrices de cadenas simples; *5*—cuatro moléculas de la segunda generación, dos de ellas (a la derecha) reproducen a la molécula progenitora de la primera generación y las otras dos (a la izquierda) reproducen la mutación

primera autorreproducción (negro). En el proceso descrito cada una de las moléculas hibridizadas produjo en un caso una copia (cadenas blanca y negra) y en el otro, los dos polinucleótidos nuevamente sintetizados (ambas cadenas negras).

De esta manera, las moléculas portadoras de la información genética se forman nuevamente en cada generación celular. Podría decirse, que prácticamente no queda nada de las moléculas y átomos iniciales con los cuales fue registrada la información genética en el óvulo fecundado del ser humano, para el momento de su nacimiento, cuando el número de células alcanza una magnitud igual a 2×10^{11}. La composición molecular de la información genética en las células del organismo humano (es decir, somáticas), y en las sexuales resulta creada totalmente en los procesos del desarrollo al autorreproducirse las moléculas de DNA. Todo esto es una demostración de que las bases materiales de la herencia están incorporadas a los procesos metabólicos y de síntesis que se efectúan en las células. En lo anterior reside la posibilidad de que surjan distintas alteraciones en la estructura molecular de los genes y los cromosomas. Estos procesos sirven de fuente para la aparición de diversas mutaciones en todas las especies de la Tierra sin exclusión.

La base de la conservación estable de toda la especificidad de la información genética de una especie y un individuo dado se halla en los principios de la autoduplicación de las moléculas de DNA. Esto está condicionado por la construcción complementaria que existe en la síntesis de las moléculas de DNA. Como resultado, tanto cada molécula «híbrida» hija como la obtenida por síntesis, reproduce toda la especificidad de la inicial. Es lógico, que al aparecer una mutación que altere la estructura molecular del DNA, ésta se reproduzca con la misma constancia en todas las autorreproducciones posteriores. Esta circunstancia garantiza el carácter hereditario de las mutaciones surgidas. Al cambiar la estructura molecular de la matriz, las mutaciones, a través de la autorreproducción, persisten durante un número ilimitado de generaciones.

Analicemos un ejemplo de esta variación mutacional. Observemos una pareja inicial complementaria de las bases guanina—citosina ($G—C$) en las condiciones cuando en una de las matrices la base G ha sido sustituida por la adenina (A). En la fig. 27, *2* está representada la aparición de este tipo de mutación: G reemplazada por A. La segunda cadena (C) no se altera. En la autorreproducción esta última construye su cadena adicional normal, copiando la estructura de la molécula inicial. La autoduplicación de la matriz mutante A conlleva a la aparición de una molécula en la cual la pareja inicial de bases $C—G$ está sustituida por una nueva de adenina—timina ($A—T$). Es lógico que en la segunda generación celular, los descendientes de las moléculas $C—G$ producirán la estructura original normal. Todos los descendientes de la mole-

cula mutante $A—T$ seguirán copiando su nuevo estado mutante.

Una parte de los virus posee moléculas simples de DNA o RNA, o sea, con una sola cadena. ¿De qué forma podría emplearse en éstas el mecanismo de la autorreproducción mediante el apareamiento de las bases nitrogenadas? Una síntesis simple en la molécula inicial es imposible, ya que no se puede obtener una cadena idéntica por medio de la combinación de bases similares.

Probablemente, en este caso la síntesis de la cadena complementaria interviene como un eslabón intermedio auxiliar. Podemos designar la molécula inicial de una cadena simple con la letra *A*. Al multiplicarse el virus, en ésta surge el segundo filamento *B*. La molécula de doble espiral así formada tiene la estructura *AB*. En la replicación, la cadena *B* resulta funcional: en ésta se sintetizan muchas copias de la cadena *A*. En la fase final al formarse partículas maduras del virus, cuando el ácido nucleico se cubre con proteína, la cadena inicial *A* se manifiesta como funcional, y es la cual precisamente se incluye en las partículas formadas. Este mecanismo puede tener lugar en la reproducción de la molécula de cadena simple del DNA, al igual que en las de RNA.

Posteriormente fueron concretados muchos detalles de la síntesis del DNA *in vivo* e *in vitro*. Resultó que existen no una, sino tres DNA-polimerasas: DNA-polimerasas I, II, III. La enzima que fue descubierta por A. Kornberg, y con la que él trabajó, fue la DNA-polimerasa I. A pesar de que esta última podía garantizar *in vitro* la réplica del DNA, en la célula participa principalmente en la denominada síntesis reparativa, o sea, la restauración de pequeñas porciones del DNA en los lugares donde existen brechas surgidas después de la pérdida de los dímeros de la timina (véase más adelante). La duplicación semiconservativa de los cromosomas *in vivo* en última instancia en las bacterias, es efectuada con la DNA-polimerasa III. Las funciones de la DNA-polimerasa II no se han establecido aún en su totalidad. En el descubrimiento de estas enzimas participó T. Kornberg, hijo de A. Kornberg.

Además de las DNA-polimerasas, en el proceso de duplicación de los cromosomas en las procariotas interviene la enzima polinucleotídica ligasa, denominada con más frecuencia simplemente ligasa. La DNA-polimerasa III sintetiza en la célula no un filamento continuo de DNA, sino sus fragmentos, en cada uno de los cuales se hallan alrededor de 1000 nucleótidos. La ligasa «cose» estos fragmentos. Recientemente fue descubierto que para que se inicie la duplicación de los cromosomas en las bacterias es necesaria, además, la participación de la enzima RNA-polimerasa y varias proteínas cuya función es aún desconocida. Finalmente, en la duplicación pueden tomar parte proteínas que «destrenzen» a los dos filamentos de DNA (la proteína más estudiada de este grupo es la denominada de Alberts, que lleva el

nombre del científico que la descubrió en los fagos). En general, juzgando por la cantidad de genes que influyen en la duplicación del DNA en las bacterias, éste es un proceso muy complejo, cooperativo, que depende ante todo, de la situación espacial de los cromosomas con relación a la membrana citoplasmática. Más adelante se dará una explicación detallada sobre la duplicación de los cromosomas bacterianos.

PRUEBAS DIRECTAS DE LA AUTORREPRODUCCIÓN SEMICONSERVATIVA DEL DNA. En el año 1958 M. Meselson y F. Stahl cultivaron una serie de generaciones de células bacterianas de *Escherichia coli*, en un medio que contenía un isótopo de nitrogeno pesado (N^{15}). Posteriormente estas células fueron trasladadas a un medio que contenía su isótopo normal (N^{14}). Al observar los polinucleótidos del DNA marcados por N^{15}, Meselson y Stahl demostraron que era completamente justa la hipótesis de Watson y Crick aplicada a la reproducción de los cromosomas de las bacterias (véase fig. 28).

El peso de la molécula del DNA cambia en presencia del nitrógeno pesado. Mediante la ultracentrifugación en un gradiente

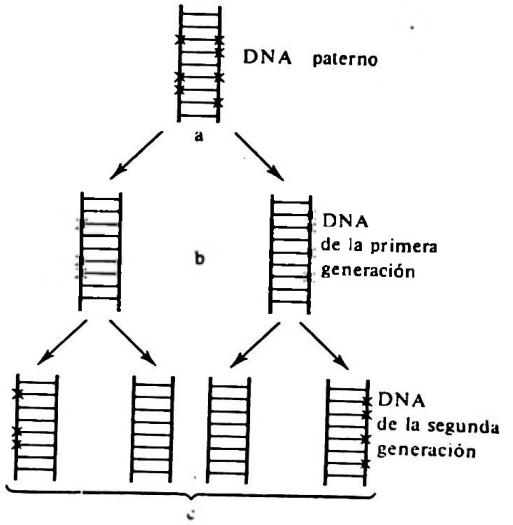


Fig. 28. Autorreproducción de las moléculas de DNA, en la cual los polinucleótidos están marcados por nitrógeno pesado (N^{15})

a—molécula progenitora de DNA, en la cual se simbolizan los átomos de N^{15} mediante asteriscos; *b*—moléculas «híbridas» de la primera generación en la cual un filamento (paterno) contiene N^{15} pesado y otro (recién sintetizado) posee el isótopo común del nitrógeno N^{14}; *c*—cuatro moléculas de la segunda generación, dos de ellas (a la derecha y a la izquierda) contienen N^{15} en los filamentos que han llegado del progenitor inicial de DNA, y dos moléculas (en el centro) que tienen nuevos filamentos de polinucleótidos libres de N^{15}

de densidad puede demostrarse que las moléculas del DNA que contienen nitrógeno en todas las bases (N^{15} en ambas cadenas polinucleotídicas) poseen la densidad mayor. La densidad media es característica de las moléculas «híbridas», que poseen en una cadena N^{15} y en la otra N^{14} y finalmente, ésta es mínima para aquellas moléculas que poseen solamente N^{14}. Todos estos tipos de molécules fueron detectados en correspondencia con las síntesis del DNA esperadas, después de ser trasladadas las bacterias con las moléculas del DNA marcadas con N^{15}, a un medio con nitrógeno N^{14}. La figura 28 muestra que las células iniciales del colibacilo que contenían N^{15} en ambos polinucleótidos, son las más pesadas (fig. 28, *a*). Las moléculas híbridas que contienen N^{15} y N^{14} son intermedias de acuerdo con su peso (véase fig. 28, *b*). En la segunda generación en la matriz, que contenía N^{14}, se forma una cadena complementaria que también contiene N^{14}. Estas moléculas que aparecen en las células de la segunda generación son las más ligeras (véase fig. 28, *c*).

Las investigaciones de Kornberg demostraron que la síntesis de las moléculas del DNA transcurre en presencia de un cebo (matriz), en forma de un polinucleótido del DNA inicial de cadena simple y que para la misma se requiere una serie de factores externos con relación a ésta y en primer lugar de proteínas-enzimas. Al realizar el experimento de duplicación en un sistema acelular en condiciones artificiales, Kornberg y sus colaboradores aislaron una enzima de las células de la bacteria *Escherichia coli*, la cual permitió efectuar la síntesis del DNA fuera de la célula. Como material inicial se tomaron los cuatro trifosfatos de desoxirribonucleósidos (*dPPP*) siguientes: adenina (*AdPPP*), timina (*TdPPP*), guanina (*GdPPP*) y citosina (*CdPPP*). En un sistema acelular en presencia de una enzima estas sustancias no producen una síntesis activa del DNA. Sin embargo, al añadirle cebo en forma de DNA de cadena simple, provoca dicho proceso. Es evidente, que para su realización realmente es necesaria una «matriz», que cree las condiciones para la síntesis de la cadena complementaria del DNA. Esta matriz es la que permite distribuir los trifosfatos de nucleósido que posteriormente, bajo la acción de las polimerasas, se unen en una cadena, perdiendo cada uno de ellos dos fosfatos (PP). La síntesis del DNA requiere, además de los trifosfatos de desoxinucleósido «matrices» y polimerasas, la presencia de iones de magnesio (Mg^{++}). Este proceso se muestra en la fig. 29.

AUTORREPRODUCCIÓN DE LOS CROMOSOMAS EN LOS ORGANISMOS SUPERIORES. La autorreproducción del material genético de los virus y las bacterias ocurre a nivel de las moléculas de DNA. Sin embargo, ¿cuál es el cuadro de la autorreproducción en los organismos superiores donde los cromosomas representan un complejo de proteína y DNA? Lo principal en este caso también indudable-

mente estárelacionado con la autorreproducción de las moléculas de DNA, por encontrarse en éstas codificada la información genética. Pero ¿en qué medida está involucrado el complejo proteico en la autorreproducción de los cromosomas?. Además, muchas observaciones citológicas y electromicroscópicas indican la compleja estructura de los cromosomas, que al parecer están constituidos por muchos filamentos elementales. La hipótesis acerca de la estructura multifilamentosa de cromosomas enfrentó grandes dificultades en cuanto a entender la autorreproducción de los cromosomas y el fenómeno de las mutaciones. La respuesta sobre la proporción entre los fundamentos moleculares y las

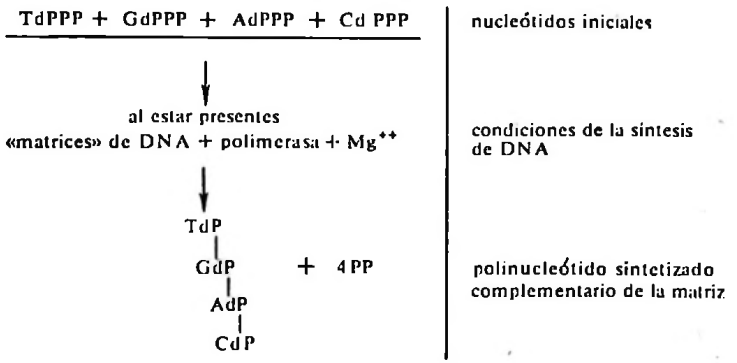


Fig. 29. Síntesis artificial de las moléculas de DNA
La explicación se da en el texto (según Kornberg)

estructuras supramoleculares dentro de la autorreproducción de los cromosomas fue obtenida en los experimentos realizados en el año 1957 por Taylor, Woods y Hughes. En estos experimentos fue empleada la autorradiografía de los cromosomas en las células vegetales. A la solución en la que crecían raíces de (*Vicia faba*), se le añadió timidina tritiada (H^3). Las moléculas radiactivas de la timidina se introdujeron en los cromosomas de las células de las raíces en los procesos de la autorreproducción de éstos. Posteriormente las radículas se trasladaban a un medio libre de timidina radiactiva, y después de un tiempo determinado se estudiaban desde el punto de vista citológico y autorradiográfico. Se halló que en la metafase de la primera división ambas cromátidas, surgidas del cromosoma marcado, portaban marcas (fig. 30, *2*). En la metafase del segundo ciclo celular una cromátida resultó marcada, y la otra no (fig. 30, *4*). Esta distribución de las marcas en las dos autorreproducciones de los cromosomas refleja los hechos ocurridos al nivel de la molécula de DNA. Apreciamos (fig. 30, *5*) que al introducir timidina-H^3, ambos polinucleótidos en la molécula inicial del DNA resultaron marcados. La cadena

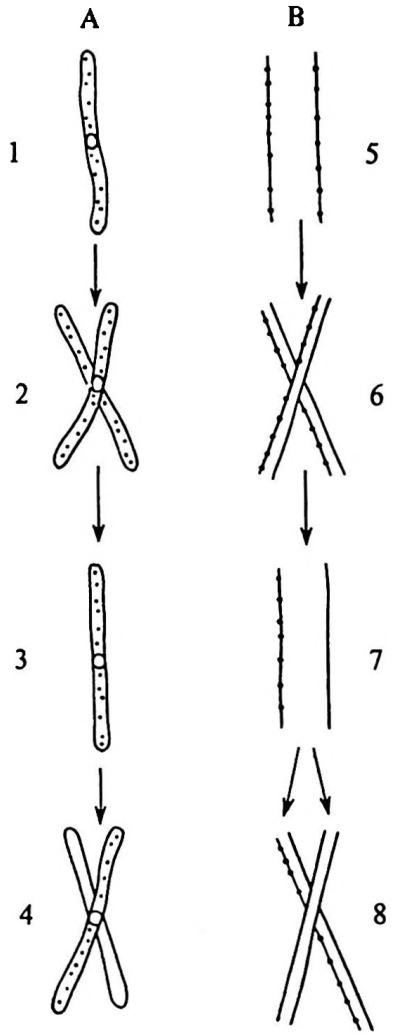


Fig. 30. Autorreproducción semiconservativa de los cromosomas

A—a nivel de los cromosomas;
B—a nivel de las moléculas;
1—cromosoma cuando existe timidina H^3 en el medio, los puntos son las marcas radiactivas;
2—cromosoma hija después de la autorreproducción que ha pasado a un medio libre de H^3. Ambas cromáticas están marcadas;
3—interfase de la segunda mitosis;
4—cromosoma de la segunda generación que contiene una cromátida marcada y otra sin marcar;
5—dos cadenas polinucleotídicas de la molécula de DNA, que constituye el fundamento del material genético del cromosoma;
6—resultado de la autorreproducción de la molécula inicial que produce dos moléculas hijas marcadas que constituyen la base de las dos cromátidas;
7—molécula hija, cromosoma en la interfase de la segunda mitosis;
8—resultado de la autorreproducción de las moléculas hijas que da una molécula marcada y otra no marcada, lo que representa la base de las cromátidas marcadas y no marcadas de la segunda generación (véase *4*)

polinucleotídica en la autorreproducción se convierte en una cromátida. La molécula de DNA de la cromátida está compuesta por una cadena con marca y la otra libre de ésta, por cuanto la síntesis del DNA transcurrió en un medio privado de timidina-H^3. Es fácil comprender, que en estas condiciones al nivel de los cromosomas ambas cromátidas en la primera generación resultaron marcadas. En la segunda autorreproducción la cromátida marcada produce una matriz, un polinucleótido sin marcar y su pareja radiactiva, como resultado dando lugar a dos cromátidas, una de las cuales tiene timidina-H^3 y la otra libre de marca radiactiva.

Estos experimentos de Taylor, así como de otros científicos, demostraron que la autorreproducción de los cromosomas en las formas superiores también se rige por las leyes de la autorreproducción de las moléculas del DNA que transcurre según el tipo de la autorreproducción semiconservativa. Hemos observado que después de la primera síntesis todas las cromátidas resultaron marcadas y pasada la segunda, una cromátida tenía marca y la otra no la poseía. Estos hechos pueden comprenderse solamente basándonos en el principio, de que el cromosoma representado en la interfase por un denominado filamento efectivo, en realidad contiene dos unidades para su autorreproducción que corresponden a las dos cadenas polinuceotídicas de la molécula de DNA. Todo esto demostró que en la base de los cromosomas de las formas orgánicas superiores está representada por una molécula de DNA de doble espiral estirada. La autorreproducción de la molécula constituye el fundamento de la autoduplicación de la información genética grabada en los cromosomas.

Preguntas para discutir

2-1. Enumere y caracterice las fases del ciclo celular y la esencia de los procesos que transcurren en las mismas.

2-2. ¿Cuáles son las fases de la mitosis, qué duración tienen y cuál es la naturaleza de los procesos que ocurren?

2-3. ¿Qué procesos determinan la forma de los cromosomas en la metafase?

2-4. ¿Cuándo ocurre la división de los centrómeros y la liberación de las cromátidas?

2-5. ¿Puede existir un cromosoma sin centrómeros o con dos centrómeros?

2-6. ¿Qué procesos moleculares sirven de base de la autoduplicación de las moléculas de DNA?

2-7. ¿Qué se entiende por autorreproducción semiconservativa?

2-8. ¿Cómo se reproduce la información genética y por qué las mutaciones son fenómenos estrictamente hereditarios?

2-9. ¿Cómo se transmite la marca en el transcurso de las dos autorreproducciones consecutivas de los cromosomas en condiciones de un medio no radiactivo?

2-10. ¿En qué consisten los fundamentos moleculares de la autorreproducción semiconservativa de los cromosomas en las eucariotas?

III Fundamentos cromosómicos de la conservación y recombinaciones de la información genética durante la reproducción sexual en las eucariotas

La conservación de la información genética al dividirse las células se efectúa mediante la autorreproducción de las moléculas de DNA. En la reproducción sexual, los organismos surgen del cigoto (óvulo fecundado) que se forma al fusionarse los gametos, o sea, las células sexuales masculina y femenina. Si cada una de éstas introdujera en el cigoto todas las moléculas de DNA de la célula (todos los cromosomas), entonces el volumen de estas moléculas aumentaría el doble en cada generación.

Cada célula somática humana consta de 46 cromosomas. Existe un mecanismo regulador que permite conservar la constancia del volumen de la información genética a través de generaciones de los organismos vivientes. Este tipo de mecanismo es la meiosis, que precede a la formación de las células sexuales lo mismo femeninas que masculinas. La meiosis consta de dos divisiones celulares después de una síntesis de DNA. Como resultado el número de cromosomas en las células de las cuales se forman los gametos, se reduce exactamente dos veces. Sin embargo, con esto no acaba el papel de la meiosis. La estructura del núcleo de las células somáticas de cada especie de organismos es completamente justificada, y se basa en la presencia de pares de cromosomas homólogos. En la meiosis no solamente disminuye dos veces el número de cromosomas, sino que ocurre una distribución de los componentes de las parejas cromosómicas por las células hijas. En esta disposición cada pareja se comporta independientemente, así surgen todas las combinaciones posibles de cromosomas de las diferentes parejas. Por último, en los procesos de sinapsis de los homólogos en cada pareja, estos cromosomas homólogos intercambian sus segmentos idénticos, creando una potente reserva adicional de combinaciones hereditarias. Este proceso recibió el nombre de entrecruzamiento (*crossing-over*). De esta manera, la meiosis

disminuye en dos veces el número de cromosomas, convirtiendo el núcleo diploide en haploide mediante la combinación de los homólogos de diferentes parejas, y a través del entrecruzamiento, aumenta bruscamente la variabilidad combinatoria hereditaria de los organismos.

MEIOSIS. La meiosis se realiza en el transcurso de dos divisiones celulares (I, II), durante las cuales ocurre sólo una síntesis de las moléculas del DNA (fig. 31). En la primera división los homólogos de cada pareja de cromosomas que poseen después de la síntesis del DNA dos cromátidas, se conjugan en la profase I y después se separan en la anafase I. Como resultado de la división I las células hijas tienen disminuido dos veces su número de cromosomas (n), conservando la cantidad de DNA, igual a la de la célula inicial (2 c). En la segunda división ocurre la separación de las cromátidas. En los gametos que se forman queda un número haploide de cromosomas (n) y la mitad de la cantidad de DNA (c). La fusión de los gametos en la fecundación reestablece el número diploide de cromosomas ($2n$) y el número duplicado de moléculas del DNA. (2 c).

Los procesos fundamentales que tienen relación con el entrecruzamiento, con la preparación de la reducción del número de cromosomas y la recombinación independiente entre los homólogos de las diferentes parejas ocurren en la profase de la primera división meiótica. Durante la profase I, transcurre una serie de procesos en las fases, de leptotena, cigotena, paquitena, diplotena y diacinesis.

El tejido embrionario está representado por espermatogonios en el sexo masculino y ovogonias en el femenino. La maduración del gameto lo mismo en las ovogonias que en los espermatogonios, se acompaña de la meiosis.

En la fase de leptotena (fase de los filamentos finos) los cromosomas están estirados, algo espiralizados pero ya pueden observarse con más nitidez. Con frecuencia éstos se orientan por sus extremos hacia una región que se encuentra en la membrana nuclear, algunas veces formando una disposición denominada buqué, en la fase de cigotena (fase de la fusión de los filamentos) los filamentos homólogos leptoténicos comienzan a conjugarse por pares (sinapsis), formando los denominados bivalentes. Esta sinapsis de los cromosomas homólogos se caracteriza por su maravillosa precisión. Como algunos genes poseen la capacidad de atracción homóloga, la exactitud del apareamiento de los cromosomas alcanza el nivel molecular. Los cuadros citológicos de esta sinapsis de los homólogos se observan en los cromosomas que poseen una estructura cromomérica bien manifestada.

El paralelismo de los homólogos en la sinapsis y el cuadro de la estructura cromomérica de los cromosomas pueden apreciarse con precisión particularmente en la siguiente fase de la meiosis que se llama paquitena (fase de los filamentos gruesos). En esta

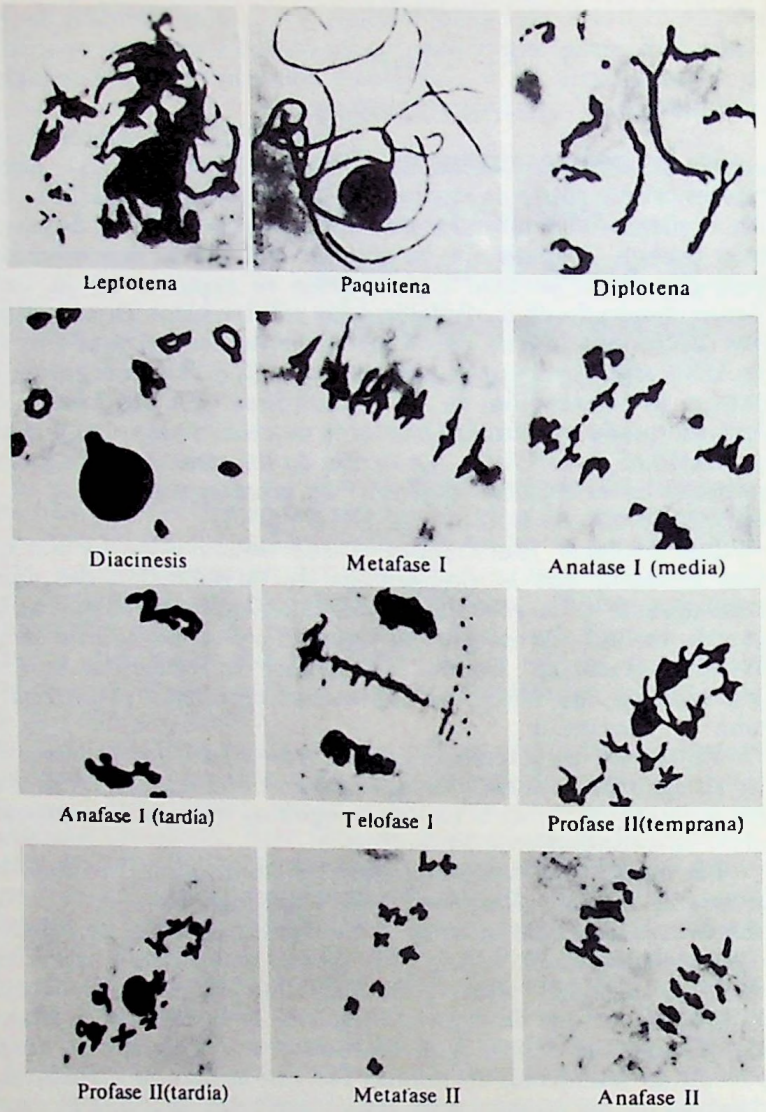


Fig. 31. Meiosis de la maduración de las células sexuales del maíz

Profase de la meiosis: fase de la leptotena—numero diploide de los cromosomas, 10 parejas: fase de la paquitena—los homólogos se encuentran en sinapsis, cada cromosoma consta de dos cromátidas, en esta fase ocurre el entrecruzamiento de los cromosomas (*crossing-over*); fase de la diplotena—los homólogos comienzan a separarse, quedando unidos en los lugares del cruzamiento (por las quiasmas), pueden observarse 10 bivalentes; fase de la diacinesis—acortamiento de los cromosomas y continúa la separación de los homólogos. En la metafase de la primera división de la maduración, las parejas de cromosomas se disponen en la placa ecuatorial; primera anafase (media y tardía), los cromosomas (cada una de las dos cromátidas) se separan hacia los polos opuestos; primera telofase—formación de dos células hijas. Profase de la segunda división meiótica (temprana y tardía). Metafase de la segunda división meiótica, se observan 10 cromosomas, cada uno contiene dos cromátidas. Anafase de la segunda división

fase culmina la sinapsis de los cromosomas (fig. 32). Esta pareja de cromosomas apareados se denomina bivalente. Al final de la paquitena en cada homólogo conjugado aparece un par de cromátidas hermanas. Estas últimas están unidas por el centrómero que convierte los bivalentes en tétradas. En la fase de los cromosomas desespiralizados, en las tétradas, aparecen los quiasmas, (conexión entre los cromosomas), lo que certifica el entrecruzamiento, o sea, el intercambio de los segmentos homólogos entre

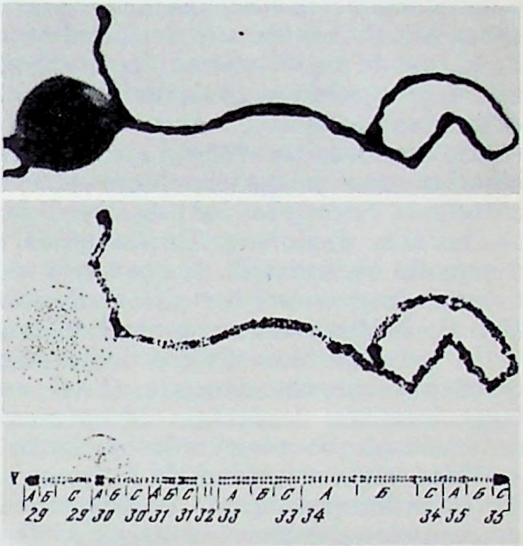


Fig. 32. Quinto cromosoma del centeno en la fase paquiténica de la meiosis

Sinapsis de los homólogos, se observa el nucléolo y el locus nucleolar. Cada uno de los cromómeros coincide con precisión con su homólogo;
A—microfotografía;
B—dibujo;
C—mapa cromomérico del quinto cromosoma

las cromátidas no hermanas en la tétrada. El número de quiasmas en una tétrada es variable, sin embargo, con poca frecuencia sobrepasa 2 ó 5.

Fue establecido, que en la paquitena tiene lugar la síntesis del DNA, lo que fue manifestado por la introducción de los precursores (nucleótidos) en las moléculas del DNA. En la profase de las mitosis comunes esto no se ha detectado. La síntesis del DNA en la fase *S*, cuando se duplican los cromosomas, recibió el nombre de síntesis replicativa. En todos los casos, el restablecimiento de las moléculas del DNA, que es posible en cualquier fase del ciclo celular ocurre una síntesis no replicativa. En la paquitena, durante el entrecruzamiento en los puntos de intercambio, ocurren procesos que exigen de algunos fenómenos de reducción, lo que provoca la aparición de la síntesis no replicativa, es decir, de recombinación del DNA. Esto indica la complejidad

molecular del fenómeno del entrecruzamiento, su vínculo con la función reductora y de otros procesos que transcurren en la célula.

La fase de diplotena (fase de los filamentos dobles) se caracteriza por una pérdida de fuerzas de atracción homóloga y por el surgimiento de fuerzas de repulsión, gracias a la cual, las parejas de cromátidas hermanas se separan unas de otras. Las tétradas son retenidas por los quiasmas, sin embargo, a la medida en que se separan las parejas de cromátidas hermanas los quiasmas, por cuanto el intercambio de los segmentos ya ha concluido, comienzan a deslizarse hacia los extremos de las cromátidas entrecruzadas, pasando por el proceso de terminalización. Un rasgo característico de la fase de diplotena es la espiralización y el empaque del filamento cromosómico, lo que conlleva a un acortamiento y ensanchamiento del mismo.

En los ovocitos de una serie de vertebrados para los que es característico un período largo de desarrollo y acumulación de sustancias de reserva, los procesos de la meiosis se detienen mucho en la fase deplotena. En las niñas, durante el quinto mes de desarrollo embrionario, los ovocitos alcanzan la fase de diplotena deteniéndose en éste hasta la ovulación. De esta manera, la duración de la diplotena en general representa un período de tiempo entre los doce años (inicio de la primera ovulación), hasta los cincuenta aproximadamente (final del período ovulatorio). La larga duración de la fase diploténica es propia de los ovocitos de una serie de vertebrados y dentro de éstos, de los ratones, anfibios, algunos peces y de los espermatocitos de varios insectos. En estas formas durante la diplotena los cromosomas no se condensan, sino que por el contrario se desmenuzan, ocurre la síntesis del RNA y proteínas, aumentando la masa del citoplasmática. Un ejemplo de este tipo de cromosomas en la diplotena pueden ser los cepillos de lámparas anteriormente descritos, en las ovogonias de los tritones.

En la fase de diacinesis, la condensación de los cromosomas alcanza su grado máximo. Las parejas de cromosomas parece como si se repelieran entre sí distribuyéndose con máxima uniformidad alrededor de la esfera del núcleo. La terminalización finaliza y surgen tétradas compactas. Estas últimas pasan a la fase de la primera división meiótida y se ubican en el plano ecuatorial. La membrana nuclear se disuelve y el nucléolo desaparece. Cada una de las cromátidas en la tétrada dirige su centrómero hacia el polo. Durante este tiempo los cromosomas poseen la condensación máxima. Por esto, la primera división meiótica conlleva a la separación de las tétradas en diadas. En la anafase de esta división las diadas se mueven hacia los polos. Este movimiento, al igual que en todos los casos, está condicionado por la atracción entre el centrómero y los polos del huso. Durante la telofase I los cromosomas se desenrollan pasando paulatinamente a la inter-

fase, la cual por regla, es corta. A diferencia de la mitosis, en ésta no ocurre la síntesis del DNA, los cromosomas no se desespiralizan completamente.

Comienza el período de tránsito a la segunda división meiótica. Nuevamente las membranas nucleares se disuelven, dejando libres a las diadas para la metafase II. En esta fase ocurre la división de los centrómeros y las cromátidas liberadas se desplazan hacia los polos opuestos, de las células hijas. Como resultado de estos procesos el número de cromosomas se reduce a la mitad, convirtiéndose en haploide, ya que de cada pareja de cromosomas llega al gameto una sola cromátida, es decir, un homólogo, y finalmente, los cromosomas homólogos por medio del entrecruzamiento realizan un intercambio de segmentos respectivos.

A través de la descripción de la meiosis, se observa, que ésta representa una mitosis modificada con la finalidad de garantizar la reproducción sexual. La diferencia consiste en que en el transcurso de las dos divisiones sucesivas tiene lugar una síntesis del DNA, que se encuentra desplazada en tiempo, ya que se efectúa en la profase de la primera división meiótica y no en la interfase. Posteriormente mediante dos divisiones se distribuyen las cuatro cromátidas que existen inicialmente en cada una de las cuatro células sexuales formadas, recibiendo como resultado cada una de éstas un numero de cromosomas haploide reducido.

En la fig. 33 puede observarse una comparación entre la mitosis y la meiosis, en la que se ha tenido en cuenta la organización de los filamentos cromosómicos a niveles; molecular, cromatídico y cromosómico. En el esquema (fig. 33) la célula inicial contiene una pareja de cromosomas homólogos (2 n), representado cada uno por una molécula del DNA en espiral doble. La autorreproducción en la fase de la síntesis (S) conlleva posteriormente a la realización de la mitosis. Después de la síntesis del DNA surge un estado tetraploídico provisional del núcleo (fase G_2, profase y metafase de la mitosis), debido a que cada cromosoma durante este tiempo está representado por un par de cromátidas unidas al centrómero. Cada cromátida está compuesta por una molécula lineal del DNA. Durante la metafase los centrómeros se duplican y las cromátidas liberadas se desplazan hacia los diferentes polos de la célula. Las células hijas obtienen como resultado el número inicial diploide de cromosomas (2 n).

Durante la meiosis, la síntesis del DNA transcurre en la profase de la primera división meiótica. Al parecer, éste es el mecanismo de arranque, por el cual la mitosis se convierte en dos divisiones meióticas entre las que no ocurre la síntesis del DNA. Como resultado, las cuatro cromátidas que se forman después de la síntesis del DNA se separan en cuatro gametos. El ciclo del organismo culmina con la fecundación, surge un cigoto que mediante las mitosis posteriores se desarrolla en un organismo multicelular.

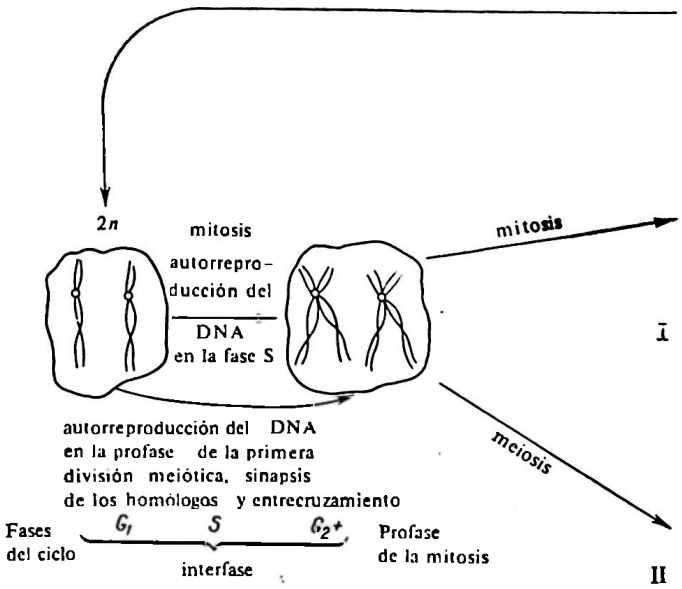
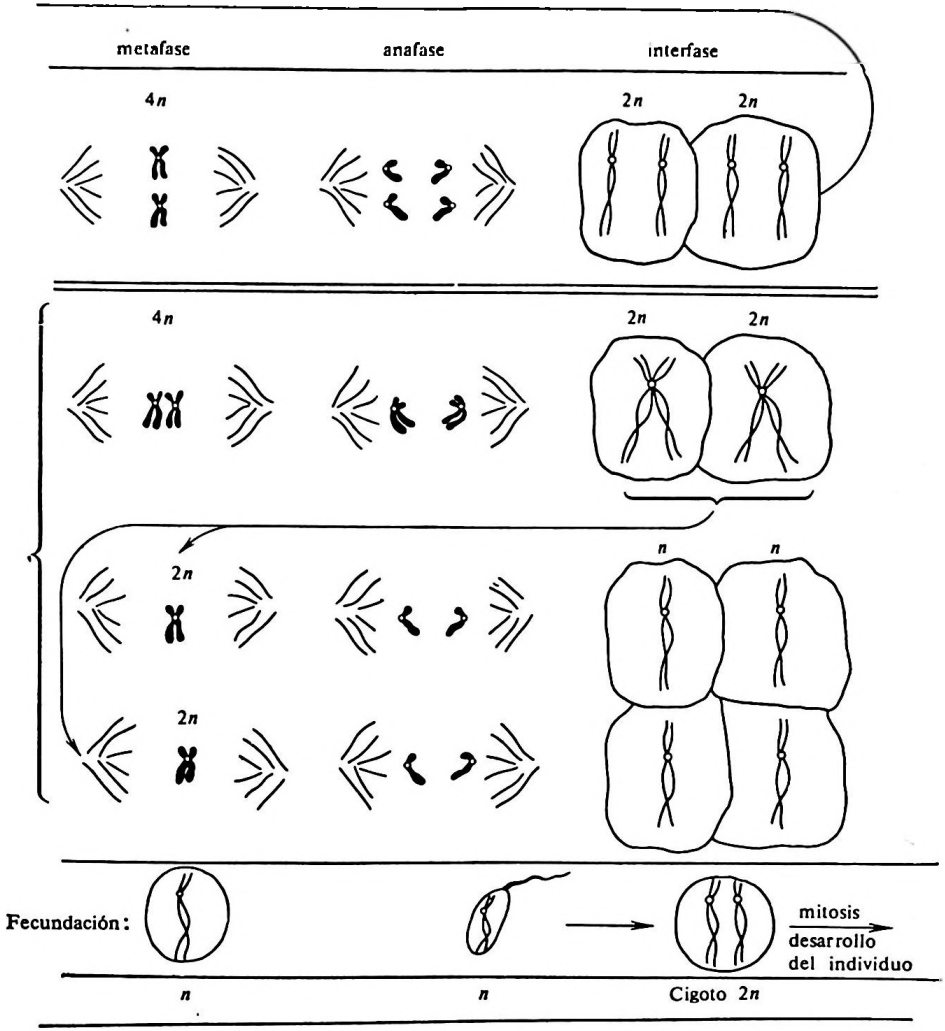


Fig. 33. Comparación de la mitosis con la meiosis

La célula inicial posee una pareja de cromosomas homólogos ($2n$) cada uno de los cuales está representado por la molécula de DNA de espiral doble. Los filamentos finos son cadenas polinucleotídicas en la molécula de DNA. En la metafase y la anafase los cromosomas y las cromátidas se han representado como estructuras compactas espiralizadas.
I—primera división meiótica;
II—segunda división meiótica

ALTERNANCIA DE LA HAPLOFASE Y LA DIPLOFASE EN LAS PLANTAS Y LOS ANIMALES A DIFERENTES NIVELES EVOLUTIVOS. En las partículas de los virus y en las células bacterianas, los cromosomas en forma de moléculas del DNA están representados por el número simple, son haploides. Sin embargo, no es ni mucho menos una propiedad constante. La molécula del DNA de los virus, al introducirse en la célula, forma decenas y centenas de filamentos homólogos del DNA. La célula resulta ser un poliploide complejo. En estas condiciones, los cromosomas de los virus sufren entrecruzamiento y se intercambian los segmentos homólogos.



En las células bacterianas pueden existir dos o varios cromosomas. Además, la proporción entre la haploidía y la diploidía se hace más compleja en las bacterias por la presencia en éstas del proceso sexual. La sinapsis de los gametos en la bacteria se encuentra ligada al paso de los cromosomas de los gametos. Sin embargo, la sinapsis se demora y en la célula germinal femenina penetra un fragmento de cromosoma perteneciente al gameto masculino. Esto trae como consecuencia el origen de una diploidía parcial. Entre el fragmento de la célula sexual masculina y el cromosoma de la femenina ocurre un entrecruzamiento. Después de la división celular la diploidía parcial produce haploides.

La evolución de las eucariotas siguió el camino de la sustitución regular de la fase haploide (haplonte) y diploide (diplonte). La aparición de los diploides se debió a la completa fusión de los gametos femenino y masculino persistiendo el núcleo fusionado en una serie de generaciones celulares. El mecanismo de la meiosis garantizó el comienzo de la nueva fase haploide. Al principio la meiosis se realizaba inmediatamente después de la formación del cigoto. Así es que surgió la diplofase de corta duración, mientras que toda la vida orgánica transcurría en la haplofase. En estas condiciones la diplofase fue representada por la única célula fecundada en la cual transcurría la meiosis, surgieron esporas con un número haploide de cromosomas, cada una de las que daba inicio a un organismo haploide.

Sin embargo, ulteriormente, mediante la selección natural, la diplofase se convirtió no sólo en fuente de variabilidad combinatoria, sino también en una forma muy útil de existencia de los organismos vivientes.

La diploidía crea mecanismos genéticos estables para la actividad vital de las células somáticas. Esta permite neutralizar muchos aspectos perjudiciales del proceso de mutación, por cuanto no aparecen cambios recesivos en las células diploides. La diploidía condiciona la existencia y el desarrollo estable de las células somáticas, debido al efecto compensador doble de los genes. Por último, gracias al número diploide de genes, se abren amplias posibilidades para las variadas y complejas interacciones de los genes, que conllevan a la elevación del vigor vital. Este fenómeno que ha recibido el nombre de heterosis, también jugó un papel de gran importancia en la persistencia evolutiva de la diplofase.

Como resultado, en los diferentes niveles del proceso evolutivo, se presenta una relación distinta entre la haplo y diplofase. Es evidente la tendencia del proceso. La diplofase poco a poco eliminó la haplofase, dejándola, por ejemplo, en los animales, solamente en la fase de las células sexuales. En los musgos las propias plantas son haploides. La diplofase está representada por formaciones multicelulares en forma de esporangios y sus pedúnculos. En los esporangios transcurre la meiosis y se forman las esporas haploides de las que crecen plantas haploides de musgo.

En una serie de algas el período de vida que ocupa la haplo y diplofase es casi igual. En los helechos, las plantas son ya diploides produciendo esporas de las que crecen gametofitos que representan la haplofase reducida.

Al estudiar las plantas superiores (fanerógamas), encontramos un cuadro de una extrema disminución de la haplofase. Los organismos vegetales son células con un número de cromosomas diploide. La haplofase caracteriza sólo a los granos de polen y a los sacos embrionarios. En dichas condiciones estos últimos ya han perdido el valor de haplofase libre puesto que crecen en la planta materna. Los granos de polen se forman en las anteras, que ini-

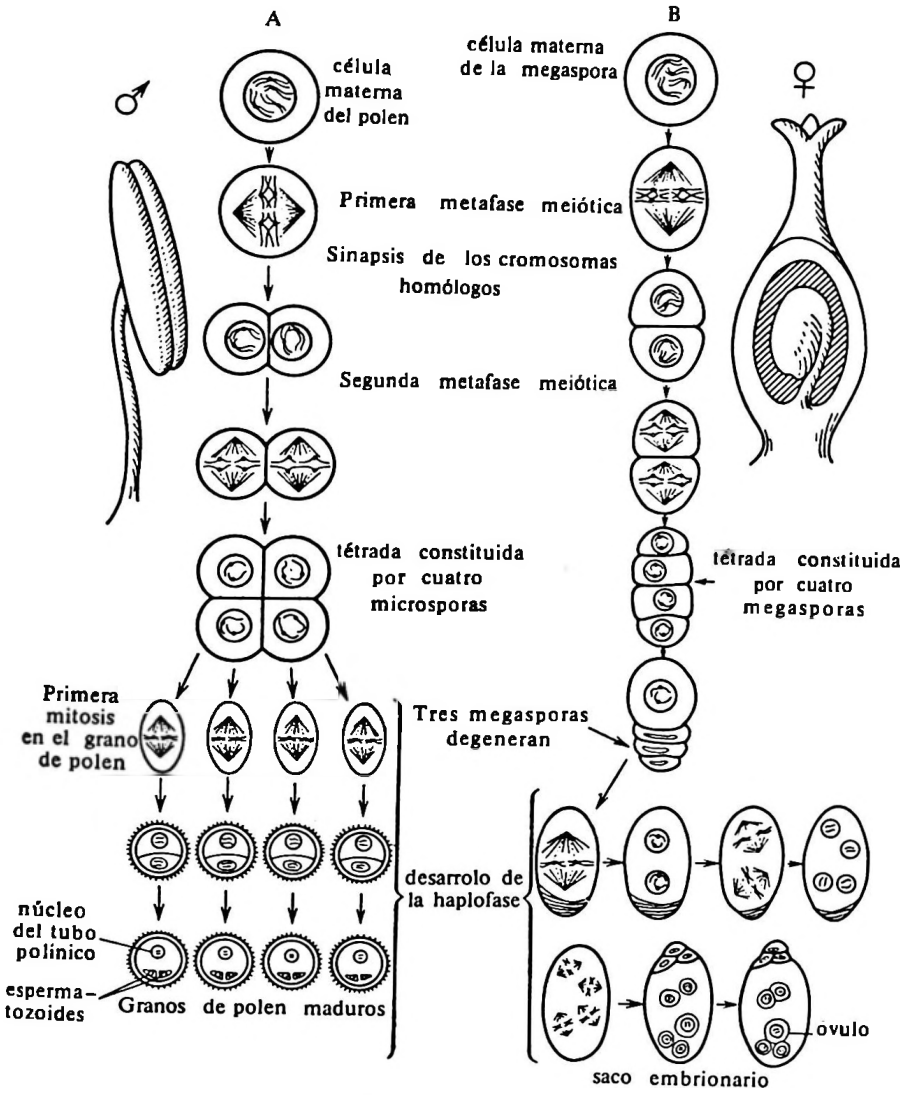


Fig. 34. Formación de los granos de polen (*A*) y de los sacos embrionarios (*B*) en las plantas angiospermas

cialmente contienen a las células maternas de polen (fig. 34, *A*). Después de la meiosis surgen tétradas, que forman un grupo compuesto por cuatro células haploides llamadas también microsporas. Cuando éstas se dividen, se originan los granos de polen. El estado haploide de los granos de polen está vinculado a dos mitosis que transcurren en los mismos, lo que conduce a la formación

de una célula vegetativa y otra generativa. La segunda mitosis concierne solamente al núcleo generativo, que después de la división da inicio a dos espermatozoides. (fig. 34, *A*).

La célula materna del óvulo (megasporocito) da inicio a un saco embrionario o el gametofito femenino. En este caso, la meiosis produce cuatro megasporas haploides (fig. 34, *B*). Frecuentemente, tres de éstas degeneran y sólo una da inicio al tejido haploide del saco embrionario. A pesar de la existencia de muchas variedades de formación de los sacos embrionarios en los diferentes representantes fanerógamas, ésta se basa en la presencia de ocho núcleos obtenidos mediante tres mitosis. Los tres núcleos del saco embrionario representan un óvulo y dos células adyacentes sinérgidas. Estas están dispuestas en el extremo anterior del saco embrionario (fig. 34, *B*). Tres núcleos forman los antípodos y se disponen en el extremo opuesto del saco embrionario. En el medio del saco embrionario se encuentran dos núcleos polares que se fusionan y forman un núcleo central. Como resultado, tenemos siete núcleos del saco embrionario, seis de éstos incluyendo el óvulo, son haploides y uno, precisamente el núcleo central tiene un número de cromosomas diploide.

En los animales superiores y en el ser humano la haplofase alcanza su máxima reducción a la mínima expresión. En este caso sólo los espermatozoides y el óvulo representan la haplofase. A todas las células somáticas de estos organismos les es característico el poseer núcleos con un número diploide de cromosomas.

Las células germinales animales y humanas se desarrollan en los ovarios y en los testículos. En estos últimos las células iniciales son los espermatogonios, que forman los llamados espermatocitos primarios o del 1^{r} orden. La división de los mismos conlleva a la reducción del número de cromosomas. Como resultado se obtienen dos espermatocitos secundarios o del 2° orden (fig. 35, *A*). Después de efectuarse la segunda división meiótica, se forman cuatro espermátidas haploides, las cuales sin división se transforman en espermatozoides activos, cuyas cabezas contienen un núcleo, y la cola representa el órgano citoplasmático del movimiento (fig. 35, *A*, abajo). El cuadro de la espermatogénesis en los grillos transcurriendo todas las etapas de la meiosis y finalizando con la formación de espermatozoides maduros, se muestra en la fig. 36.

En los ovarios, las ovogonias son tejido inicial que da origen a los ovocitos primarios. En la primera división meiótica se forman dos células desiguales por su tamaño con núcleos haploides Una de éstas, es el ovocito secundario, que contiene gran cantidad de citoplasma (fig. 35, *B*). La segunda, que se ha denominado primer corpúsculo polar, sujeta consigo una cantidad insignificante de citoplasma. En la segunda división meiótica, el ovocito secundario se divide nuevamente en dos células desiguales, formando por un lado un óvulo haploide, y por el otro, un pequeño

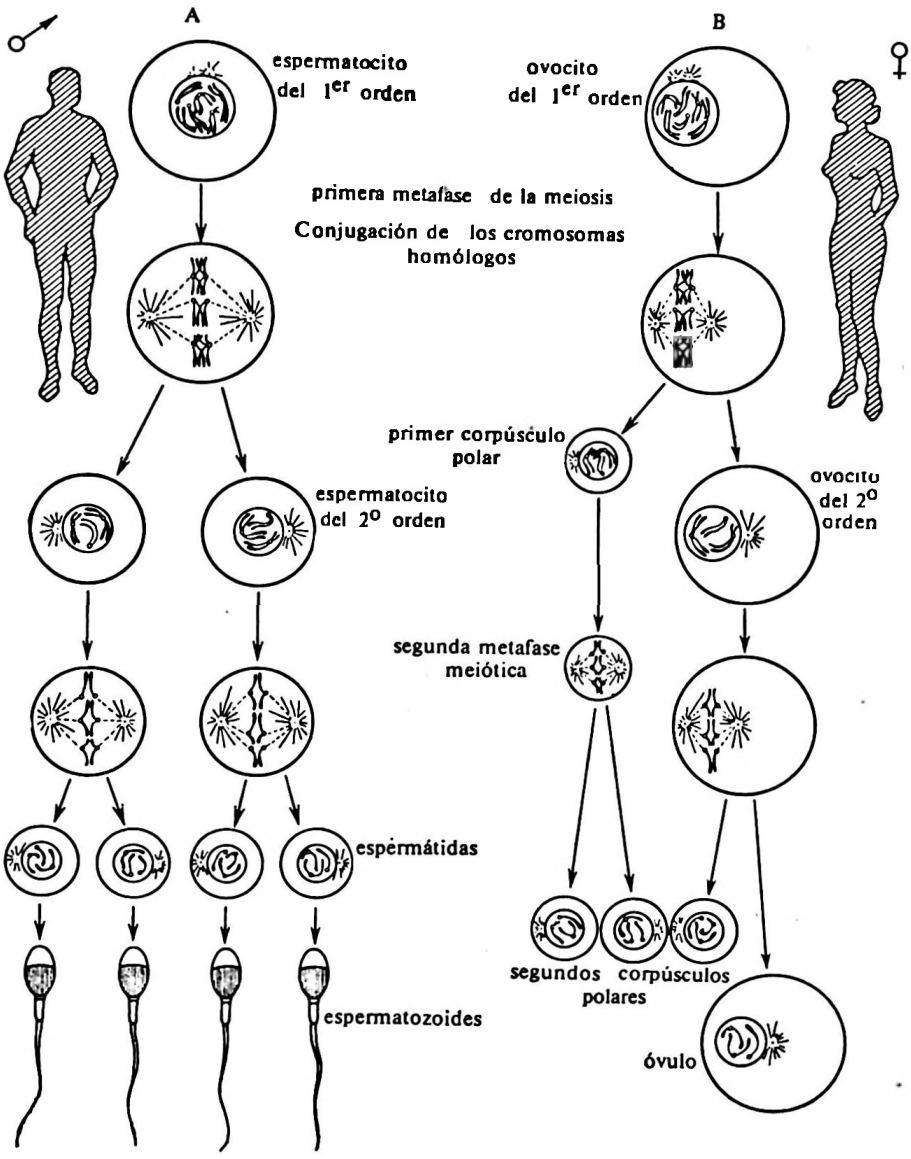


Fig. 35. Espermatogénesis (*A*) y ovogénesis (*B*) en el ser humano

corpúsculo polar secundario. Como resultado, el ovocito primario produce un óvulo maduro con todas las reservas citoplasmáticas necesarias y tres corpúsculos polares secundarios abortivos (fig. 35, *B*, abajo).

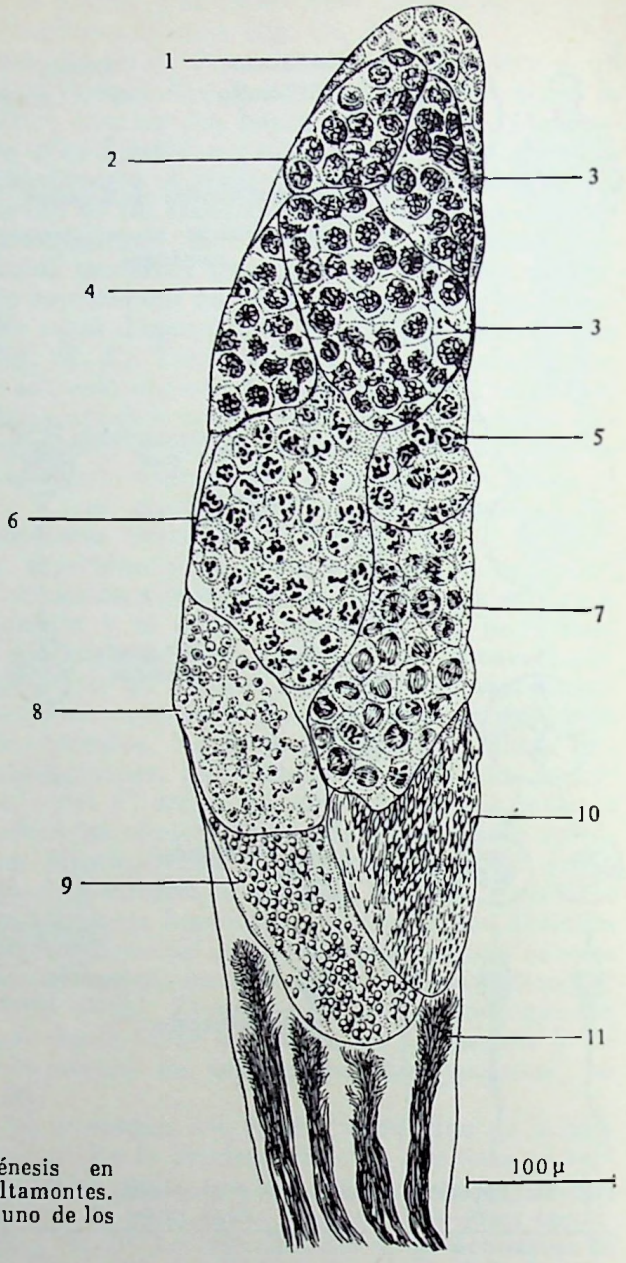


Fig. 36. Espermatogénesis en el testículo del saltamontes. Corte transversal por uno de los canales del testículo

1—espermatogonio; *2*—fase de la leptotena en los espermatocitos; *3*—cigotena; *4*—paquitena; *5*—diplotena; *6*—diacinesis; *7*—metafase de la primera división; *8*—espermátidas tempranas; *9*—espermátidas después de formarse la cola; *10*—espermátidas después de estirarse la cabeza; *11*—haces de espermatozoides maduros (según R. King)

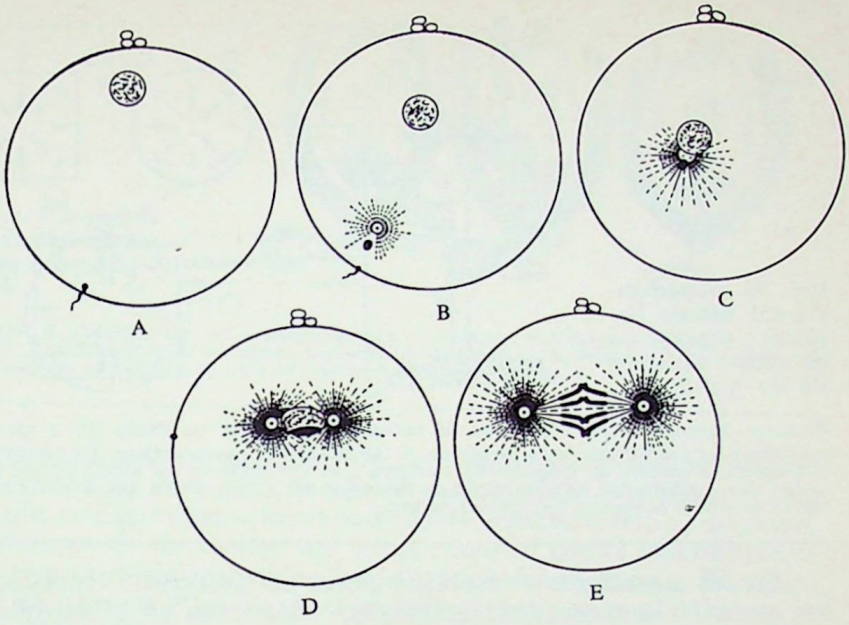


Fig. 37. Proceso de fecundación

A—el espermatozoide penetra en el orocito, en la parte superior se observan tres corpúsculos polares; *B*—centríolos traídos por el espermatozoide organizan en huso de la primera división; la cabeza del espermatozoide y el núcleo del óvulo se acercan uno al otro; *C*—se divide el centrosoma, los núcleos haploides masculinos y femeninos están cerca; *D*—los núcleos se fusionan, surge el huso de la división; *E*—las cromátidas se separan hacia las células hijas

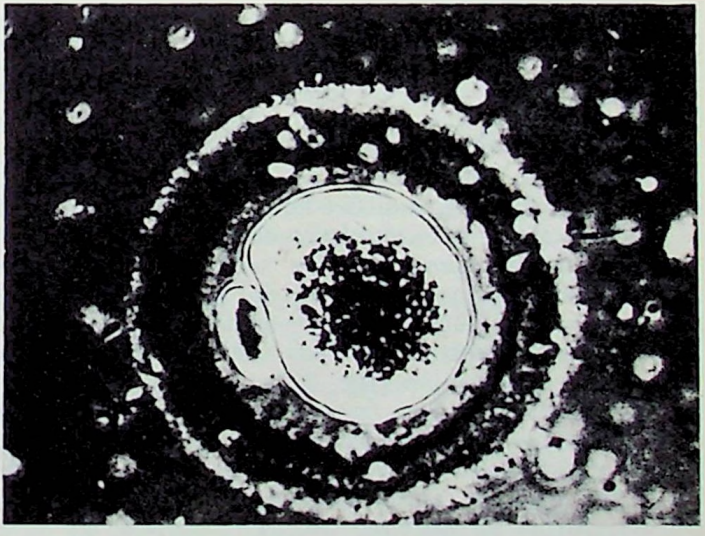


Fig. 38. Fecundación del óvulo humano

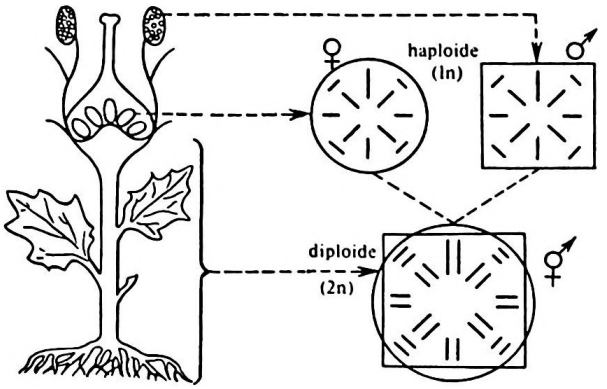


Fig. 39. Alternancia del estado haploide y diploide en el ciclo biológico de las plantas

Gametos haploides (12 cromosomas en número simple —*n*); un óvulo (♀) y un espermatozoide (♂) se forman como resultado de las dos divisiones meióticas. La fusión de los mismos en el proceso de fecundación conlleva a la aparición de un cigoto (óvulo fecundado) que contiene un número diploide de cromosomas ($2n = 24$). Al desarrollarse el cigoto concluye la espiral del ciclo biológico.

En los mamíferos el embrión posee un desarrollo interno, por eso para él la reserva de sustancias nutritivas en el citoplasma del óvulo tiene un valor limitado, por cuanto puede obtener las reservas de sustancias nutritivas necesarias a través del organismo materno. Los óvulos más grandes se forman en las aves, que tienen el desarrollo externo del embrión. Este durante todas las etapas del desarrollo, hasta su salida del huevo, obtiene las sustancias nutritivas del óvulo. La célula más grande en el mundo animal es el huevo de avestruz.

FECUNDACIÓN. Después de penetrar en el óvulo, el núcleo de espermatozoide (pronúcleo masculino) se mueve hacia el centro (fig. 37), donde ocurre su fusión con el núcleo del óvulo (pronúcleo femenino) y surge el núcleo del cigoto. De esta forma la unión entre el óvulo y el espermatozoide (fig. 38) conduce a la aparición de un huevo u óvulo fecundado (cigoto) que garantiza la creación de un núcleo diploide en el cual un número haploide se obtiene de la madre y el otro, del padre. Posteriormente, en los procesos de fraccionamiento y en las siguientes mitosis el núcleo del cigoto con todo el contenido de su información genética se reconstituye en todas las células somáticas del organismo. Un ser adulto forma gametos produciendo una nueva generación (fig. 39).

En las plantas fanerógamas, el proceso de fecundación se hace más complejo por el fenómeno que se ha denominado fecundación doble, descubierto en el año 1898 por S. G. Navashin. La esencia de la fecundación doble consiste en que dos espermatozoides que se desarrollan en un tubo polínico, después de su germinación, a través del tejido del pistilo hacia el saco embrionario, fecundan en

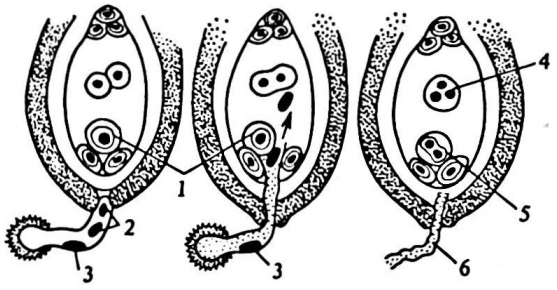


Fig. 40. Proceso de fecundación en las plantas fanerógamas

1—óvulo; *2*—núcleos de los espermatozoide; *3*—núcleo del tubo polínico; *4*—núcleo triploide del endosperma; *5*—cigoto diploide; *6*—tubo polínico arrugado. Un espermatozoide fecunda al óvulo y el otro al núcleo central

él diferentes elementos. Uno de los espermatozoides se fusiona con el óvulo, y otro, con el núcleo central (fig. 40). El óvulo fecundado mediante las mitosis consecutivas se convierte en embrión. El producto de la fusión del núcleo central con el espermatozoide en una serie de mitosis se transforma en endosperma. El cigoto posee un número diploide de cromosomas que a su vez, debido a la acción del mecanismo de la mitosis se reconstituye en todas las células del embrión.

En lo que respecta al endosperma, todas sus células son triploides. Estas contienen tres números de cromosomas, ya que el núcleo central surgió mediante la fusión de dos núcleos polares y se le ha añadido un número haploide más del espermatozoide.

Preguntas para discutir

3-1. Enumere las tres funciones fundamentales de la meiosis.

3-2. ¿Cuáles son las fases que constituyen la profase de la primera división meiótica?

3-3. ¿Cuándo y cómo ocurre la sinapsis de los cromosomas homólogos? ¿Qué se entiende por fuerzas de repulsión de los homólogos?

3-4. ¿Qué es un quiasma y qué es el entrecruzamiento?

3-5. ¿Cuándo ocurre la síntesis del DNA en la meiosis?

3-6. ¿Cuáles son los rasgos principales que caracterizan el número haploide de los cromosomas?

3-7. ¿En qué se diferencia la primera división meiótica de la segunda?

3-8. ¿Cuáles son las diferencias principales entre la mitosis y la meiosis?

3-9. ¿En qué reside la esencia de la alternancia de la haplo y diplofase, y por qué el carácter de esta alternancia depende de la posición de la especie dentro del proceso evolutivo?

3-10. ¿En qué consiste la haplofase en las plantas fanerógamas?

3-11. ¿Cuáles son las particularidades del desarrollo de los granos de polen maduros en las plantas?

3-12. ¿Qué es el saco embrionario en las plantas superiores, y por qué células está constituido?

3-13. En las plantas de trigo, en las anteras cien células maternas sufrieron los procesos meióticos. ¿Cuántos granos de polen se formarán en estas condiciones?

3-14. ¿A qué organismos les es característica la reducción máxima de la haplofase?

3-15. Describa los procesos de la formación de los espermatozoides y los óvulos en el ser humano.

3-16. En un período determinado en los ovarios de una mujer se formaron 100 óvulos. ¿Cuántos ovocitos primarios participaron en la formación de los 100 óvulos?

3-17. ¿Cuál es la esencia de la fecundación?

3-18. Describa los rasgos principales de la fecundación en las plantas fanerógamas.

3-19. En las células de la planta *Crepis capillaris* se encuentran seis cromosomas (tres parejas). ¿Cuántos cromosomas contienen las células y tejidos siguientes:
a) óvulo
b) espermatozoide
c) cigoto
d) embrión
e) endosperma
f) célula materna del polen?

IV Fundamentación de la teoría del gene

La historia de la Genética moderna comienza al confirmarse la teoría del gene en el año 1900, cuando E. Tschermak, C. Correns y H. de Vries redescubrieron independientemente uno del otro las leyes de la herencia de los caracteres individuales, sin llegar a suponer que éstas ya se habían descubierto en el año 1865 por G. Mendel.

Mendel enunció y fundamentó la idea acerca de la existencia de factores hereditarios, empleando el cruzamiento de plantas, que se diferenciaban por caracteres contrastantes. En el año 1909, Johannsen propuso denominar estos factores genes. Tres años antes de que esto sucediera, Bateson propuso llamar la nueva ciencia, Genética.

EXPERIMENTOS DE G. MENDEL SOBRE EL CRUZAMIENTO MONOHÍBRIDO. Mendel eligió para realizar los experimentos de cruzamientos, 22 variedades de guisantes que poseían diferencias alternativas precisas en siete caracteres: semillas redondas o angulares, cotiledones verdes o amarillos, piel de la semilla gris o blanca, semillas lisas o rugosas, verdes o amarillas, flores en posición axilar o terminal, plantas altas o enanas. En el transcurso de varios años, Mendel investigó esas variedades valiéndose de la autofecundación, convenciéndose de que éstas representaban formas puras desde el punto de vista de la herencia. En una serie de descendientes, éstos no presentaban ninguna desviación de los caracteres estandartizados de la variedad.

El cruzamiento demostró, que los híbridos manifiestan sólo un carácter de los pares alternativos. Tales caracteres Mendel los nombró dominantes. Entre éstos se encontraban la forma redonda de las semillas, la coloración amarilla de los cotiledones, el color gris de la piel de las semillas, la forma lisa de las legumbres, la coloración verde de las mismas, la posición axilar de las flores y el tallo alto de las plantas.

Después de obtener la primera generación en la cual, debido a la dominancia el carácter de uno de los progenitores no se manifestó, ante Mendel surgió la interrogante de si la ausencia de esta propiedad evidenciaba su desaparición, o si ésta de todas maneras se encontraba oculta en la herencia del híbrido. Para dar solución a esta cuestión, Mendel sometió a los híbridos de la primera generación a la autofecundación. Resultó, que entre los descendientes de estos híbridos, junto a los individuos que tenían carácter dominante, aparecieron las particularidades del otro progenitor que se ocultaban en el híbrido. De esta manera, resultó, que los rasgos que no se habían manifestado en los descendientes de la primera generación, no habían desaparecido ni mucho menos. Bajo el amparo de los caracteres dominantes también los «concesivos» se escondían dentro de la compleja herencia del híbrido. Considerando esta circunstancia, Mendel denominó a los caracteres que se ocultaban en los híbridos, recesivos.

Así pues, fueron enunciados los dos principios genéticos más importantes, el fenómeno de la dominancia y la recesividad. El hecho de que el carácter recesivo en forma oculta pasa por una generación de híbridos y nuevamente surge, o como suele decirse, reaparecen por segregación en los descendientes de los híbridos, indujo a Mendel a la idea sobre la existencia de factores hereditarios responsables de estos fenómenos. Designó el factor hereditario para el carácter dominante con la letra mayúscula «*A*», y el otro para el recesivo, con la minúscula «*a*».

Puesto que los híbridos poseían los factores *A* y *a*, su estructura puede ser anotada como *Aa* que indica la duplicidad de los factores, ya que están representados por parejas. Por eso, los individuos dominantes puros fueron designados de la forma *AA*, y los individuos recesivos, de la *aa*. Posteriormente los organismos que poseían la pareja de alelos idénticos (*AA* o *aa*) comenzaron a denominarse homocigotos. Los individuos *Aa* recibieron el nombre de heterocigotos.

Resultó ser, que la acción mutua entre estos pares de genes se regula por leyes, no sólo al manifestarse los caracteres de los híbridos, sino también en el proceso del heredamiento de los genes. Posteriormente estos pares de genes se denominaron pares de alelos.

Las leyes de interacción entre los alelos fueron descubiertas por Mendel al analizar los caracteres que se manifiestan en la descendencia de los híbridos. La aparición en la segunda generación de híbridos de variadas categorías de descendientes, existiendo uniformidad en los híbridos de la primera generación, recibió el nombre de segregación.

La interrogante principal se planteaba así. Si la pareja de genes se reúne en el híbrido *Aa*, entonces, ¿cómo se comportarán estos genes en la siguiente generación? Mendel estudió este problema experimentalmente, sometiendo los híbridos *Aa* a la auto-

Fig. 41. Gregorio Mendel (1822—1884) (según H. Iltis)

fecundación y en forma estrictamente cuantitativa, estudió la segregación en sus descendientes. Fue precisamente este enfoque estadístico el que le ofreció a Mendel, todos los argumentos fundamentales para probar teórica y experimentalmente la base del estudio sobre la herencia discreta.

En la descendencia de los híbridos autofecundados *Aa*, o sea, en la segunda generación después del cruce de las formas puras del guisante, Mendel detectó un cuadro de segregación regular para los alelos *A* y *a*.

Las cifras absolutas obtenidas de la segregación las investigó Mendel empleando la teoría de las probabilidades. El determinó que en cada experimento por separado y en su totalidad la cantidad de dominantes con respecto a la de los recesivos es de 3:1 (fig. 42, 43). Al establecer esta proporción simple entre dominantes y recesivos en la segunda generación de híbridos, Mendel dio otro paso revelando tras ésta la manifestación de la ley de segregación interna.

El cruce entre los individuos que se diferencian por un alelo, recibió el nombre de cruzamiento monohíbrido, y el cuadro de la segregación de híbridos en la segunda generación se denomina respectivamente segregación monohíbrida.

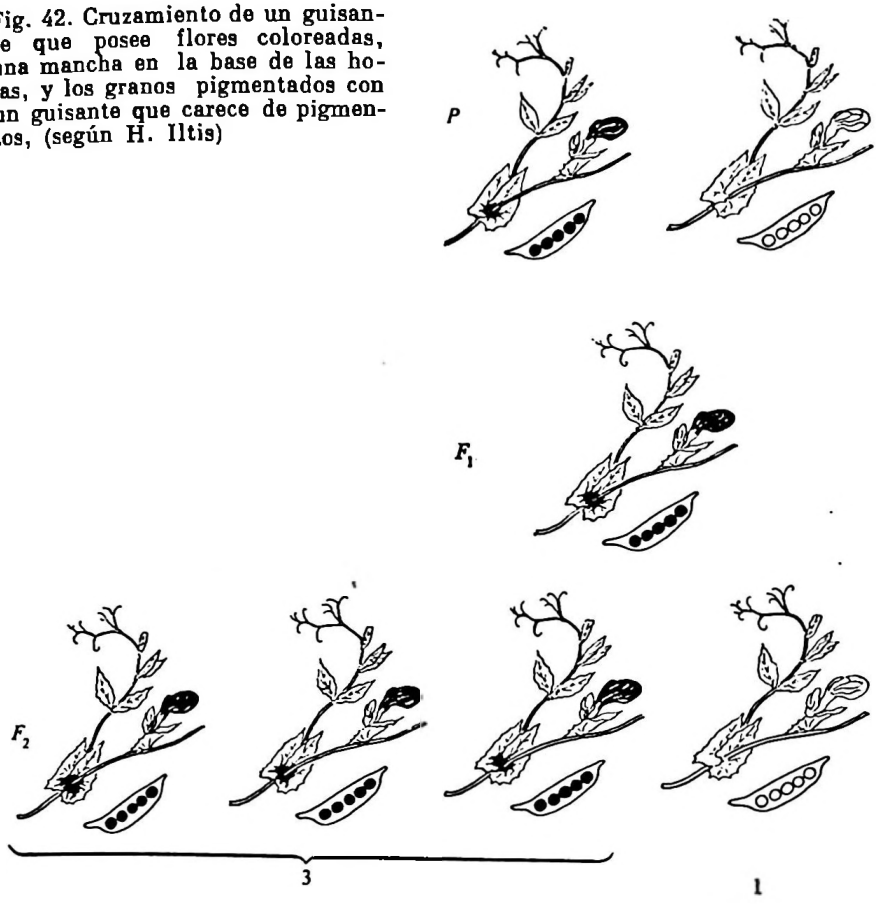


Fig. 42. Cruzamiento de un guisante que posee flores coloreadas, una mancha en la base de las hojas, y los granos pigmentados con un guisante que carece de pigmentos, (según H. Iltis)

Al obtener la segregación del fenotipo según la fórmula $3A + 1a$, Mendel se planteó la tarea de descubrir la esencia del proceso de segregación, de comprender cómo se heredan los alelos, en otras palabras, de estudiar esta segregación desde el punto de vista del genotipo. Para este fin Mendel sometió a la autofecundación todos los individuos de la segunda generación, tanto con caracteres dominantes ($3A$) como con recesivos ($1a$) para estudiar luego sus descendientes. Como era de esperar, todos los individuos a, produjeron plantas que poseían solamente este carácter. Evidentemente, que todas éstas poseían el genotipo homocigótico aa.

Un cuadro diferente se detectó al estudiar los individuos con carácter dominante. Resultó que 2/3 de los individuos con carácter dominante A dieron en la descendencia una segregación en

una proporción $3A + 1a$. De esta manera, resultaron heterocigotos, teniendo el genotipo Aa y dentro de los individuos restantes con carácter dominante A, o sea, los que constituían 1/3 del total de individuos con carácter A, no hubo ninguna segregación. Lo dicho mostró que 1/3 de los individuos A son homocigotos con respecto al alelo dominante, teniendo el genotipo AA. Por tanto, en el cruzamiento monohíbrido, Mendel determinó que la segregación para el fenotipo en la segunda generación adopta la forma $3A + 1a$. Sin embargo, dentro de los dominantes fueron hallados

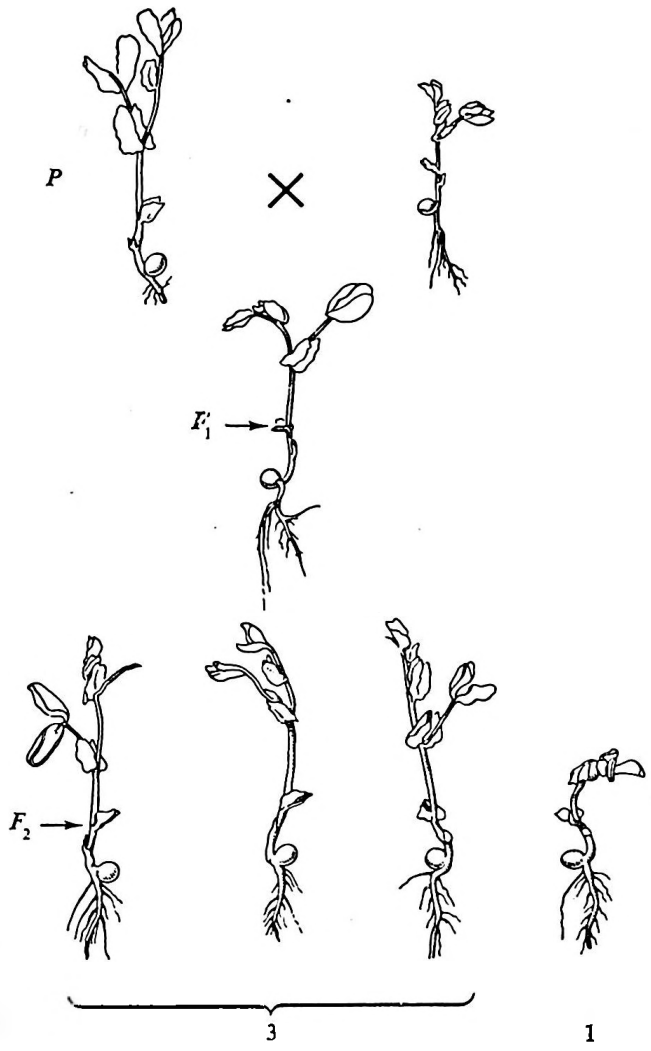


Fig. 43. Cruzamiento de un guisante de tallo alto con uno enano

En F_1 domina el tallo alto, en la segunda generación la segregación tiene una proporción de 3 : 1

tanto los homocigotos *AA*, como los heterocigotos *Aa*.La segregación para el genotipo en este caso se escribiría en la forma siguiente: $1AA + 2Aa + 1aa$.

HIPÓTESIS DE MENDEL ACERCA DE LA DIVERGENCIA DE LOS ALELOS AL FORMARSE GAMETOS.

Para esclarecer la esencia de la ley de la segregación era necesario comprender qué regularidad existe en el comportamiento de los alelos al madurar las células sexuales, que conllevan a la aparición de diferentes tipos de gametos, así como las leyes de combinación de éstos en los procesos de fecundación. Precisamente estas dos cuestiones constituyen el fundamento de la herencia de los genes, que reside en la base de todos los fenómenos hereditarios de los caracteres de los organismos. Mendel no poseía conocimientos acerca de la citología de la herencia, los cromosomas ni de su comportamiento, todo esto fue descubierto recién en el siglo XX. De una forma puramente teórica y completamente correcta Mendel postuló la existencia de un mundo interno en el comportamiento de los alelos al madurar las células sexuales que antes de sus trabajos habían estado completamente ignorados, y las leyes de la combinación de los gametos en la fecundación, suponiendo que en los procesos de su maduración los alelos se separan unos de otros. Esto concierne a los procesos de maduración tanto de los gametos femeninos como los masculinos. Desde este punto de vista, los organismos heterocigóticos según la pareja de alelos *Aa*, producen la mitad de gametos con el alelo *A* y la otra, con el *a*.

Mendel sometió la hipótesis sobre la divergencia de los alelos a una prueba experimental directa. El realizó el cruce que en la literatura moderna se denomina cruzamiento analítico. Mendel cruzó un individuo heterocigótico para el alelo dado *Aa* con el homocigoto recesivo *aa*. Si los heterocigotos *Aa* producen la mitad de gametos con el alelo *A* y la otra mitad con el alelo *a*, y los homocigotos forman gametos solamente con el alelo *a*, entonces puede esperarse una nueva proporción de los descendientes en la segregación monohíbrida. En este caso es de suponer que se obtenga la segregación por la fórmula: $1Aa + 1aa$. El experimento confirmó por completo la hipótesis de Mendel.

Posteriormente el hecho de la divergencia de los alelos del heterocigoto *Aa* en los diferentes gametos, o sea la formación de un 50% de gametos con el alelo *A* y la otra mitad con el *a*, obtuvo una confirmación directa y absoluta. En la fig. 44 se expone el polen de maíz obtenido de una planta heterocigótica *Aa*, después de ser tratado con yodo. En el maíz, el arroz, el guisante y otras plantas existen variedades que se diferencian unas de otras por los carbohidratos que se acumulan en sus células. Así, por ejemplo, la variedad de maíz almidonoso, posee en las células del grano almidón que se tiñe intensamente de azul en las reacciones

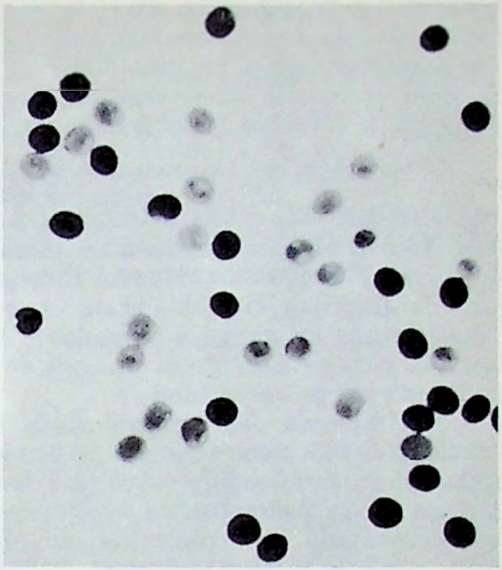


Fig. 44. Polen de la planta de maíz heterocigótica con respecto a la pareja de alelos (almidonoso —céreo)
El polen que contiene un alelo almidonoso está coloreado de oscuro y el que contiene el céreo, de color claro (según M. Demerec)

con el yodo. En la variedad cérea del maíz se forma dextrina. En este caso los granos de polen se tiñen de color rojo. Estos caracteres se determinan por una pareja de alelos, con la particularidad de que el almidonoso (*A*) domina sobre el céreo (*a*). Por eso, al cruzar todas las plantas de la primera generación (*Aa*), resultan almidonosas. En la segunda generación comienza la segregación por cada tres plantas que forman almidón, aparece una cérea. Los carbohidratos se acumulan en muchas células, incluyendo también en los granos de polen. Es por esto que al teñirse, todo el polen de la variedad almidonosa se colorea de azul, mientras que el de las plantas de maíz céreas, de rojo. ¿Qué tipo de polen se producirá en las plantas heterocigóticas con genotipo *Aa*?. Según la hipótesis de Mendel, el polen de este tipo de híbridos debe teñirse en un 50% de azul (alelo *A*) y en un 50% de rojo (alelo *a*). Los experimentos demostraron la total coincidencia entre lo esperado y el material obtenido (véase fig. 43).

Con ayuda del denominado análisis tetrádico, que se basa en que la célula materna produce cuatro gametos haploides fueron dadas brillantes pruebas sobre la justeza de la idea de que en el heterocigoto *Aa*, el alelo *A* y el *a* se separan en diferentes gametos. De esta manera en los musgos mediante la división de una célula materna, aparece una tétrada que contiene cuatro esporas haploides. El análisis tetrádico consiste en el estudio individual de las cuatro plantas, cada una de las cuales se desarrolla a partir

de su propia espora. El análisis de las plantas heterocigóticas de musgos (Aa), demostró que sus tétradas siempre contienen la mitad de esporas (2 esporas) de las cuales se desarrollan plantas con caracteres A y la otra, con a. En este caso, el principio de Mendel acerca de la divergencia de los alelos se ha demostrado también a nivel de la formación de los gametos.

TEORÍA DE LAS PROBABILIDADES EN EL ANÂLISIS DE LA SEGREGACIÓN MENDELIANA. Al elaborar la hipótesis sobre la divergencia de los alelos al formar los gametos, Mendel interpreto las leyes de segregación descubiertas por él a la luz de la teoría de las probabilidades. Suponía que los gametos portadores de diferentes alelos se combinan en parejas durante el proceso de fecundación de acuerdo con las leyes de la casualidad

A comienzos del presente siglo R. C. Punnett propuso una forma cómoda para expresar la unión de los diferentes tipos de gametos y la obtención sobre esta base de diferentes clases genotípicas de la descendencia, valiéndose de un cuadrado. Para el caso estudiado de segregación monohíbrida el cuadrado de Punnett posee la siguiente forma:

Gametos de los progenitores	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

Para el cruzamiento analítico examinado, la segregación posee otro carácter:

Gametos de los progenitores	A	a
a	Aa	aa
a	Aa	aa

Muchos de sus éxitos en el análisis de los problemas de la herencia Mendel los debe al empleo de la teoría de las probabilidades para descubrir las leyes biológicas. El resultado de la unión de diferentes tipos de gametos, Mendel mismo lo expresó algebraicamente. Así, para cruzar los heterocigotos ($Aa \times Aa$) tenemos la siguiente combinación de dos clases de gametos pertenecientes a cada progenitor:

$$(A + a) \times (A + a) = 1AA + 2Aa + 1aa.$$

ANÁLISIS DE LA SEGREGACIÓN MONOHÌBRIDA EN EL SIGLO XX APLICADO A LOS ANIMALES Y LAS PLANTAS. Las inmensas investigaciones efectuadas en el siglo XX demostraron que Mendel realmente descubrió el hecho de la existencia de los genes estableciendo su herencia. La teoría del gene resultó universal para todos los orga-

nismos vivientes sobre la Tierra. A comienzos del presente siglo fueron revisados los experimentos que realizó Mendel con el guisante, demostrando la absoluta objetividad y certeza de los hechos establecidos por el científico. En la tabla 1, se exponen los mate-

Tabla 1

Datos obtenidos en la revisión de los hechos obtenidos por Mendel en la segregación del color de las semillas del guisante

Investigador	Semillas amarillas, *A*		Semillas verdes, *a*		Total
	cantidad	%	cantidad	%	
Mendel, 1865	6 022	75,05	2 001	24,95	8 023
Correns, 1900	1 394	75,47	453	24,53	1 847
Tschermak, 1900	3 580	75,05	1 190	24,95	4 770
Hurst, 1904	1 310	74,64	445	25,36	17 55
Bateson, 1905	11 902	75,30	3 903	24,70	15 806
Lack, 1905	1 438	73,76	514	26,33	1 952
Darbishire, 1909	109 060	75,09	36 186	24,91	145 246
Total	134 706	75,09	44 692	24,91	179 399

riales de la segregación por una sola pareja de alelos *A* y *a*, donde *A* representa el color amarillo dominante de los granos de guisante y la *a*, el verde recesivo.

Posteriormente, el mendelismo obtuvo una amplia aplicación en los experimentos con muchas otras plantas y animales. Al describir el proceso del cruzamiento, generalmente se representan los progenitores con la letra *P* (*Parientale*) y la descendencia, con la *F* (*Filiale*).

En los moluscos terrestres el cruzamiento entre las formas blancas y rayadas, demostró el cuadro de segregación monohíbrida mendeliana (fig. 45). En el maíz este fenómeno, en cuanto a los caracteres del grano, puede ser estudiado directamente en las mazorcas F_1, ya que los granos en sí representan plantas de la futura generación F_2. En la fig. 46 se muestra una mazorca que presenta la segregación monohíbrida según la coloración de los granos: los oscuros se encuentran tres veces en mayor cantidad que los claros. El primer carácter es dominante y el segundo, recesivo.

Los datos de Mendel, acerca de que el cruzamiento entre distintas formas genéticamente puras produce una descendencia uniforme de híbridos en la primera generación (F_1) y que en la segunda (F_2) siempre ocurre la segregación, fueron completamente confirmados. Sin embargo, además del fenómeno de la dominancia, muchos investigadores detectaron un cuadro de manifestación intermedia para una serie de caracteres en los heterocigotos. En

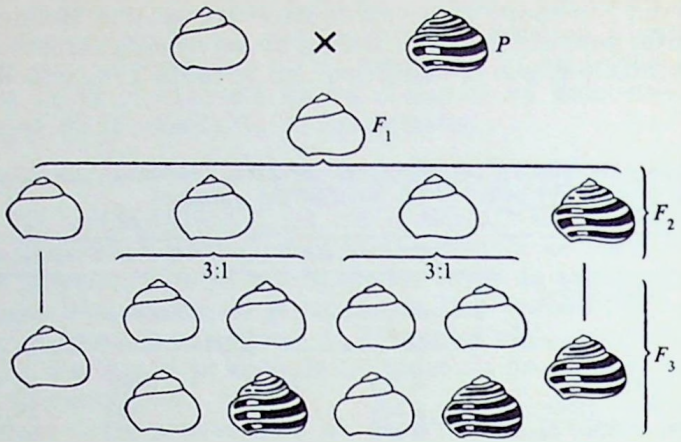


Fig. 45. Cruzamiento entre las formas blanca y rayada de los moluscos terrestres (*Helix hortensis*)

Domina el color blanco, en la segunda generación por la fórmula 3 : 1. El análisis genético de los individuos F_1 (véase F_2) muestra la presencia de una segregación para el genotipo $1AA + 2Aa + 1aa$ (según Baur y Goldschmidt)

este caso el alelo recesivo *a* en las células del heterocigoto (*Aa*), parece como si debilitara la acción del alelo dominante *A*.

Al cruzar gallinas blancas y negras, todos los individuos de la primera generación resultan azules. Durante largo tiempo, sin éxito alguno, trataron de lograr una raza pura de estas gallinas andaluzas azules. Sin embargo, las gallinas azules, siendo heterocigóticas se segregan infaliblemente. En este caso al cruzarse los heterocigotos ($Aa \times Aa$), por término medio por cada 4 gallinas nace una negra (*AA*), dos azules (*Aa*) y una blanca (*aa*). Similarmente se comportan los alelos para el color en boca de dragón. El alelo *A* determina el desarrollo del color rojo, y el *a*, el del blan-

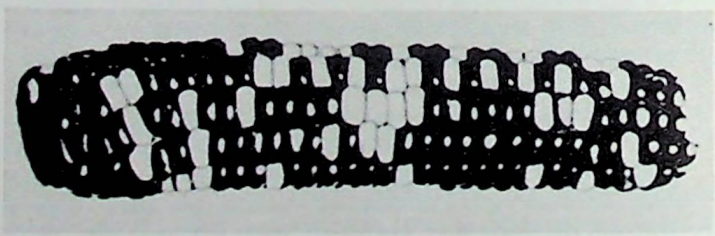


Fig. 46. Segregación monohíbrida en la mazorca de maíz

Domina el alelo del color oscuro

Fig. 47. Gorila albino

co, mientras que las plantas heterocigóticas son de color rosado (*Aa*). En la segunda generación la segregación transcurre según la fórmula: 1 flor roja (*AA*), 2 rosadas (*Aa*) y una blanca (*aa*).

HERENCIA MENDELIANA Y GENÉTICA HUMANA. Después de las demostraciones de que la teoría del gene abarca todas las especies vegetales y animales, fueron presentados hechos de que también la herencia del hombre está sujeta a la ley universal sobre la información genética codificada en los genes, a los fenómenos de las mutaciones y a las leyes de la herencia de los caracteres mendelianos. En el hombre encontramos una inmensa variedad hereditaria. Cada uno de los genes humanos muestra la herencia típica mendeliana. El albinismo es una mutación muy conocida, en la cual la persona está excenta casi por completo del pigmento en la piel, los cabellos y los ojos. Este tipo de mutación se ha detectado no sólo en el hombre, sino que es propia a muchas especies animales y vegetales en los cuales el carácter del albinismo está ligado a una mutación recesiva. Lo mismo puede observarse en el ser humano. Dicha mutación ha sido detectada en todas las razas humanas, por cada 20—30 mil recién nacidos, nace un albino (fig. 47).

El análisis de los árboles genealógicos, demuestra que el albinismo en el hombre es también un carácter recesivo (fig. 48). El albinismo se debe a la homocigosis por el alelo *a* (*aa*). Las personas, homocigóticas para el alelo dominante de la pigmentación

Fig. 48. Prueba de la segregación mendeliana en el ser humano
niño albino, nacido de dos indios normalmente pigmentados (según R. Mars)

(*AA*), o heterocigóticas para este gene (*Aa*), desarrollan una pigmentación normal. El matrimonio entre un albino y un individuo normal conlleva, por regla general, al nacimiento de hijos normales, ya que en las poblaciones humanas la mayoría de las personas son homocigotos para el alelo *A* (*AA*). En el caso del matrimonio entre un albino y un heterocigoto (*Aa*), nacerán una mitad de los niños normales (*Aa*) y la otra de albinos (*aa*). En una familia de homocigotos para el gene del albinismo (*aa* × *aa*), todos los hijos sin excepción serán albinos (*aa*). Los gemelos monovitelinos son ambos albinos (fig. 49).

En las personas normales (no albinas) la coloración del iris de los ojos es muy variada, comenzando desde el color azul claro, pasando por el pardo hasta casi ser puramente negro. La investigación genealógica demostró, que los ojos azules claros son recesivos (*a*) y los oscuros (pardos o negros) son dominantes (*A*). En relación a lo dicho, en los matrimonios de progenitores con ojos azules claros (*aa* × *aa*) frecuentemente nacen hijos con ojos azules claros solamente (*aa*). Al casarse los individuos con ojos oscuros, si ambos o uno de ellos es homocigoto (*AA* × *AA*; *Aa* × *AA*), todos los niños nacen con ojos oscuros. Si ambos padres son heterocigotos (*Aa* × *Aa*), sus descendientes pueden tener los ojos

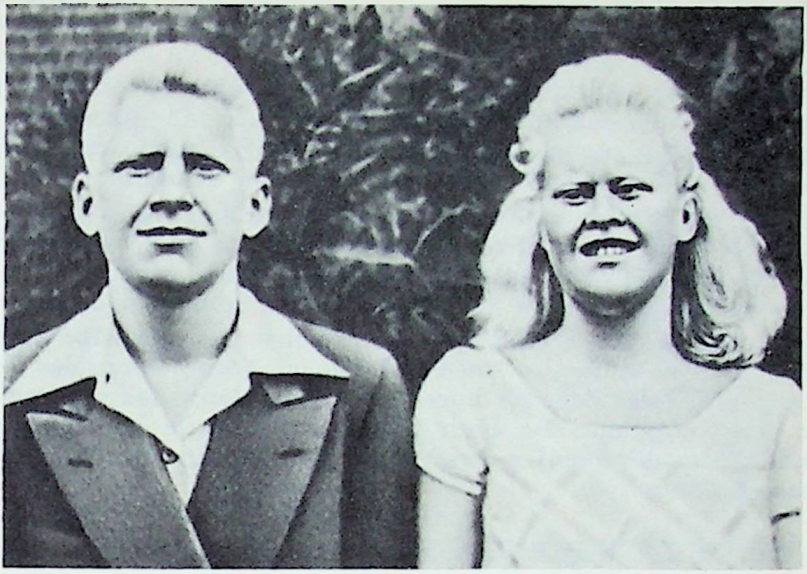


Fig. 49. Albinismo en el ser humano
Manifestación de una mutación homocigótica recesiva en los gemelos no idénticos

tanto pardos como azules claros. Sin embargo, este simple esquema se complica por el hecho de que en la práctica existen todas las transiciones de los ojos claros a los oscuros. Como resultado, en algunos casos se considera uno de los progenitores o a la criatura como si tuviera coloración oscura al carecer éste del gene *A*.

Al trabajar con feniltiocarbamida (PTC), los químicos descubrieron, que unas personas sienten el amargor de este preparado y otras lo perciben como una sustancia carente de sabor. Resultó, que esta diferencia esta ligada a la acción de una pareja de alelos diferentes. El análisis de los matrimonios demostró que las personas que perciben el sabor amargo del PTC, poseen el gene dominante *T* en estado homocigótico (*TT*) o en el heterocigótico (*Tt*), y los que no perciben su gusto son homocigotos para el alelo recesivo *t* (*tt*).

Al inocular sangre humana en el conejo, éste reacciona inmunizándose contra los eritrocitos introducidos. El suero sanguíneo del conejo inmunizado contiene anticuerpos que provocan la aglutinación de los eritrocitos humanos (se pegan). Landsteiner y Levine demostraron que al emplear el suero inmune contra diferentes personas, éstas se dividen en tres grupos sanguíneos designados por M, N y MN. Los eritrocitos de los individuos del grupo M, son portadores de un antígeno denominado M. Sus eritrocitos pueden aglutinarse con sueros sanguíneos de conejos inmunizados

con este tipo de sangre (suero anti-M) y los del grupo N poseen antígeno N aglutinándose con el suero anti N. Finalmente, los glóbulos rojos de la sangre MN poseen los antígenos M y N y pueden ser aglutinados por ambos sueros.

El análisis de la descendencia de varios centenares de matrimonios, en que fueron revisados los grupos sanguíneos de los esposos, e hijos según los grupos M, N y MN, demostró, que la existencia del antígeno M depende del gene denominado con el símbolo M^M, y el antígeno N, depende de su alelo M^N. Ambos no muestran dominancia ni recesividad, actuando en forma completamente independiente uno del otro. Esta acción mutua entre los alelos recibió el nombre de codominancia. Se entiende perfectamente, que en estas condiciones las personas con genotipo $M^M M^N$ poseen ambos antígenos perteneciendo al grupo sanguíneo MN.

Los múltiples defectos humanos y las enfermedades hereditarias están sujetas a las leyes mendelianas de la herencia, que siendo alelos dominantes o recesivos, poseen herencia intermedia o codominante.

FUNDAMENTOS CROMOSÓMICOS DE LA HERENCIA MENDELIANA. En nuestros días los fundamentos citológicos de la herencia mendeliana son evidentes, estando vinculados a la existencia de los cromosomas homólogos, a los fenómenos de la meiosis y de la fecundación. Los

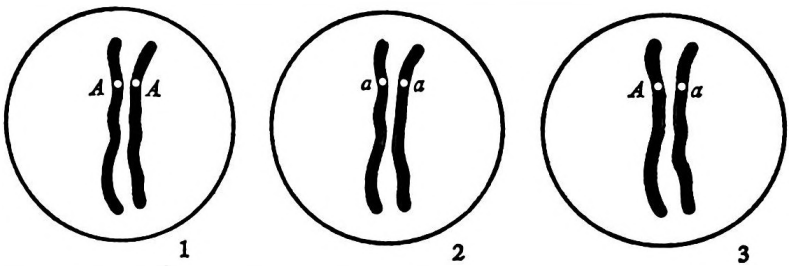


Fig. 50. Localización de pares de alelos en loci idénticos de los cromosomas homólogos

1—homocigoto *AA*; *2*—homocigoto *aa*; *3*—heterocigoto *Aa*

pares de alelos se hallan ligados a los cromosomas homólogos. La separación de cada uno de los alelos en diferentes gametos, se basa en los procesos de separación de los homólogos durante la meiosis, cuando el número diploide de cromosomas se convierte en haploide. Las posibles combinaciones de los alelos durante el cruzamiento reflejan el azar de las combinaciones entre diversas clases de espermatozoides portadores de distintos genes y óvulos diferentes genotípicamente en la misma medida.

Las parejas de alelos, tales como *A* y *a*, ocupan los loci idénticos en las parejas de cromosomas homólogos (fig. 50). La unión

de estos cromosomas en un híbrido conduce a la aparición del heterocigoto *Aa*. Los alelos *A* y *a*, se encuentran en los puntos homólogos de la pareja de cromosomas homólogos. Entre los alelos no existe entrecruzamiento y por ello, éstos se separan obligatoriamente durante la meiosis en diferentes gametos, que reciben un cromosoma de la pareja adquiriendo el alelo *A* o el *a*. La

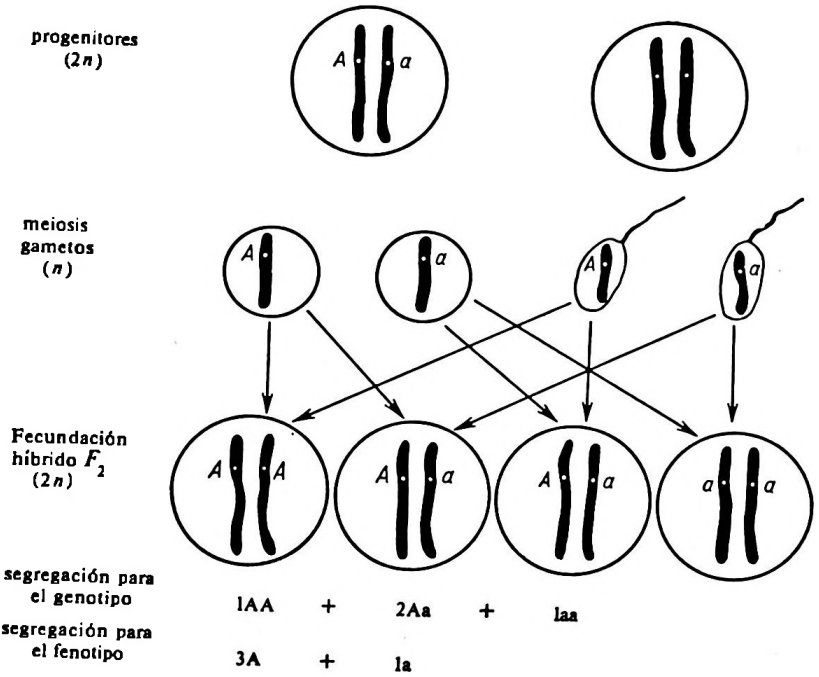


Fig. 51. Fundamentos cromosómicos de la segregación monohíbrida
Meiosis, fecundación y segregación en la segunda generación (F_2)

regularidad de la segregación de los híbridos en la segunda generación, es una consecuencia de las particularidades de la meiosis, que en este caso se efectúa en el heterocigoto, operando con la pareja de cromosomas portadores de diferentes alelos. Los heterocigotos *Aa*, gracias a la separación de los homólogos, forman dos clases de gametos, *A* y *a* (fig. 51) que se recombinan entre sí libremente durante los procesos de la fecundación. Como resultado, surgen tres clases de descendientes: *AA*, *Aa* y *aa* en una proporción de 1:2:1. La segregación para el fenotipo en el caso de los dominantes, tiene el aspecto correspondiente de 3*A*:1*a*.

Lo sustancial es, que los dos alelos al ocupar los loci homólogos en la pareja de cromosomas se separan en gametos en forma

«pura». El individuo *Aa* forma una mitad de gametos con el gene *A* y la otra de gametos con el gene *a*, sin ningún tipo de elementos de «contaminación mutua». Esto se encuentra condicionado a que cada uno de los alelos está representado por su estructura molecular. Sus productos se interrelacionan durante el desarrollo del individuo, pero esas estructuras de por sí se mantienen estables. Estos principios enunciados posteriormente a Mendel recibieron la denominación de ley de la pureza de los gametos.

Preguntas para discutir

4-1. ¿Por qué se considera a 1900 como el año del nacimiento de la Genética moderna?

4-2. ¿Cuándo Mendel realizó su descubrimiento?

4-3. ¿Qué son los caracteres alternativos?

4-4. ¿Cuáles son los caracteres que Mendel denominó dominantes y cuáles, recesivos?

4-5. ¿Por qué se ha aceptado en la actualidad la ley de la uniformidad de los híbridos de la primera generación y no la ley de la dominancia?

4-6. ¿En qué consiste la idea sobre la denominación algebraica de los caracteres alternativos propuesta por Mendel a la luz de los datos sobre la segregación?

4-7. ¿Qué es un gene?

4-8. Describa el cuadro de segregación monohíbrida mendeliana.

4-9. ¿Qué es un alelo y una pareja de alelos?

4-10. ¿Cuál es la diferencia que existe en la segregación monohíbrida al ser analizada para el fenotipo y el genotipo?

4-11. ¿Qué organismos se denominan homocigotos y cuáles son heterocigotos?

4-12. ¿En qué consistió la hipótesis de Mendel acerca de la separación de los alelos?

4-13. Cite pruebas para demostrar la hipótesis de Mendel acerca de la separación de los alelos *A* y *a*. ¿Qué nuevos hechos se conocen al respecto? ¿Qué es el análisis tetrádico?

4-14. ¿Qué es el cuadrado de Punnett?

4-15. Exponga algunos datos acerca de la segregación monohíbrida mendeliana en animales y plantas excluyendo el guisante con el cual trabajó Mendel.

4-16. ¿Son válidas las leyes de Mendel para la herencia humana?

4-17. ¿Qué es la codominancia?

4-18. ¿Cuál es la esencia de los fundamentos cromosómicos de la herencia mendeliana?

4-19. ¿Qué se entiende por loci homólogos?

4-20. ¿En qué se caracteriza la herencia de los gemelos monovitelinos?

4-21. ¿Qué obtendremos en F_1 y F_2 después de cruzar guisantes homocigóticos para el carácter dominante del color de las flores con plantas homocigotos para el carácter recesivo de carencia de color?

4-22. Al cruzar experimentalmente gallinas negras con blancas todos los individuos de F_1 resultan azules. ¿En qué se diferencia este tipo de herencia de la dominante y qué nombre recibe?

4-23. ¿Por qué es imposible obtener por herencia una raza pura de gallinas azules que no se segregue? ¿Qué se obtendría al cruzar gallinas azules entre sí, azules con blancas, y azules con negras?

4-24. Determine qué gametos y en qué proporción en por ciento forman el heterocigoto *Aa* y los homocigotos *AA* y *aa*.

4-25. Al cruzar un individuo, homocigótico para el carácter de las semillas redondas *AA*, con otra planta homocigótica para el carácter recesivo de las semillas rugosas *aa*, obtenemos el heterocigoto *Aa*. ¿Qué descendencia aparecerá al cruzar este heterocigoto con el homocigoto *aa* y con el homocigoto *AA*? ¿Cuál de estos cruzamientos recibe el nombre de cruce analítico?

4-26. Fueron seleccionados 6 conejos y cruzados con un homocigoto recesivo negro *aa*. En cinco casos la descendencia estuvo compuesta por conejos de color gris. En uno entre los 9 conejos hubo 5 grises y 4 negros. Indique el genotipo de los progenitores y de los descendientes.

4-27. Un hombre con ojos azules contrajo matrimonio con una mujer de ojos pardos. Tuvieron un hijo de ojos azules. ¿Cuál será el genotipo del padre si el carácter de los ojos oscuros es dominante?

4-28. Un matrimonio con pigmentación normal son heterocigotos para el gene del albinismo. ¿Qué posibilidad existe de que su primogénito sea albino?

4-29. Un hombre con sangre MN contrae matrimonio con una mujer que posee el grupo sanguíneo N. ¿Cuál es el genotipo de los progenitores y qué hijos pueden nacer de ese matrimonio?

V Variabilidad combinatoria en la herencia independiente de los pares de alelos

El fenómeno de la variabilidad combinatoria fue descubierto por G. Mendel. Esto ocurrió debido a que él elaboró los problemas del cruzamiento sobre la base de una teoría universal. La primera complicación fue el estudio de las leyes del cruzamiento dihíbrido, o sea, las consecuencias del cruzamiento de individuos que se diferenciaban por dos caracteres alternativos (por las dos parejas de alelos).

CRUZAMIENTO DIHÍBRIDO

SEGREGACIÓN PARA EL FENOTIPO. Mendel cruzó una variedad de guisante que poseía dos caracteres dominantes, las semillas redondas y amarillas (*AABB*) con otra que tenía dos caracteres recesivos, semillas rugosas y verdes (*aabb*). La primera generación estuvo constituida por plantas con semillas redondas y amarillas *AB*. El genotipo de los híbridos se caracterizó por ser diheterocigoto *AaBb*.

En la segunda generación aparecieron cuatro categorías de descendientes en la siguiente proporción:

Semillas redondas y amarillas *AB*	315
Semillas rugosas y amarillas *aB*	101
Semillas redondas y verdes *Ab*	108
Semillas rugosas y verdes *ab*	32

Mendel tomó la cifra 32 por la unidad, en este caso la fórmula de segregación dihíbrida en la forma general adquiere el siguiente aspecto:

$9AB : 3Ab : 3aB : 1ab.$

En la segunda generación se obtuvo en el experimento un total de 556 semillas. Si consideramos la segregación ideal según la

fórmula 9/16: 3/16: 3/16: 1/16, entonces debe existir la siguiente proporción entre los individuos de cada una de las clases:

312,75 : 104,25 : 104,25 : 37,75.

Esta serie de cifras satisface por completo la proporción entre las clases fenotípicas, obtenidas en el experimento.

Al analizar la segregación dihíbrida, Mendel determinó la ley de la transmisión independiente de las parejas de factores hereditarios. En la segregación dihíbrida tenemos una combinación simple de dos segregaciones monohíbridas independientes:

$9AB + 3aB + 3Ab + 1ab = (3A + 1a)(3B + 1b)$.

SEGREGACIÓN PARA EL GENOTIPO. Mendel supo descubrir, autofecundando a todos los cuatro grupos de la segunda generación *AB*, *aB*, *Ab* y *ab*, la composición genotípica de cada planta que formaba parte de los mismos. Eso le permitió establecer la fórmula genotípica completa de la segregación dihíbrida. Resultó, que los individuos del primer grupo que poseían dos caracteres dominantes (fenotipo *AB*), se dividieron en cuatro categorías de individuos que se diferenciaban por el genotipo en la siguiente proporción:

$1AABB + 2AABb + 2AaBB + 4AaBb$.

El análisis de las plantas con semillas rugosas y amarillas demostró que todas eran homocigotos para el alelo rugoso (*aa*), sin embargo, una tercera parte de éstas eran homocigotos y dos terceras partes eran heterocigotos para el alelo del color (*BB*, *Bb*):

$1aaBB + 2aaBb$.

En el tercer grupo todas las plantas fueron homocigotos para el alelo recesivo del color (*bb*), sin embargo, un tercio de éstas fueron homocigotos (*AA*) y dos tercios, heterocigotos para el alelo de la forma de la semilla (*Aa*):

$1AAbb + 2Aabb$.

El último grupo de individuos con dos caracteres recesivos fue homocigótico con respecto a ambos alelos *aabb*.

La fórmula de segregación dihíbrida para F_2 en forma desglosada se representa, tanto para el fenotipo como para el genotipo de la siguiente manera:

Fenotipo	Genotipo	Fenotipo	Genotipo
9AB	*1AABB*	*3aB*	*1aaBB*
	2AaBB		*2aaBb*
	2AABb	*3Ab*	*1AAbb*
	4AaBb		*1Aabb*
		1ab	*1aabb*

Con el análisis matemático elemental Mendel demostró que la fórmula de segregación dihíbrida del genotipo 4 : 2 : 2 : 1 : 1 : : 2 : 1 : 2 : 1, calculada por él experimentalmente, representa el resultado de la combinación independiente de dos segregaciones genotípicas durante el cruzamiento monohíbrido. Esta fórmula de segregación dihíbrida para el genotipo es producto de una multiplicación:

$(1AA + 2Aa + 1aa)\ (1BB + 2Bb + 1bb)$

FORMACIÓN DE LOS GAMETOS EN LOS DIHETEROCIGOTOS. La esencia de la idea acerca de la transmisión independiente de dos parejas de alelos, radica en la noción que tenemos acerca de la recombinación independiente de éstos al formar gametos. Esto demuestra que el diheterocigoto *AaBb* por medio de las combinaciones independientes de los alelos, pero en condiciones en que los genes alélicos dentro de las parejas se repelen entre sí durante la meiosis, produce cuatro categorías de gametos en igual cantidad:

25% *AB*; 25% *Ab*; 25% *aB*; 25% *ab*.

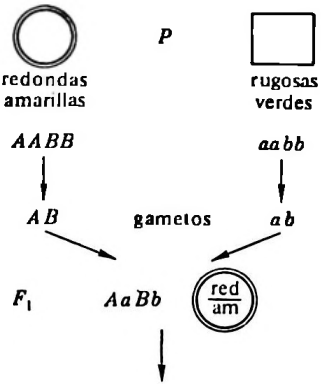
El hecho de que el dihíbrido *AaBb* pueda producir cuatro variedades de gametos en igual cantidad, claramente se debe a los datos obtenidos por el cruzamiento anáilitico en la herencia dihíbrida (*AaBb* × *aabb*). Por cuanto el analizador (*aabb*) da lugar solamente a gametos *ab*, entonces es lógico que la combinación de estos gametos con distintas variedades del diheterocigoto sometido a prueba (*AaBb*) debe manifestar toda su variedad y la proporción cuantitativa. Observamos que en el caso del cruzamiento analítico en la segregación dihíbrida el diheterocigoto forma realmente cuatro tipos diferentes de gametos en cantidades equivalentes:

Gametos	*AB*	*aB*	*Ab*	*ab*
ab	*AaBb*	*aaBb*	*Aabb*	*aabb*

La fórmula de la segregación, en este caso, adopta la forma siguiente:

para el fenotipo: $1AB + 1aB + 1Ab + 1ab$
para el genotipo: $1AaBb + 1aaBb + 1Aabb + 1aabb$

LEY DE LA TRANSMISIÓN INDEPENDIENTE DE LAS PAREJAS DE ALELOS. La comprensión del hecho de que el diheterocigoto produce cuatro variedades de gametos que se combinan libremente entre sí, para formar la segunda generación, descubre el aspecto interno de la ley de la transmisión independiente de las parejas de alelos. Ahora bien, basándonos en la teoría de la divergencia de los alelos y de la recombinación independiente de los mismos pertenecientes a diferentes parejas, nos quedan claros todos los aspectos de la



F_2

gametos F_1	AB	Ab	aB	ab
AB	$AABB$ red/am	$AABb$ red/am	$AaBB$ red/am	$AaBb$ red/am
Ab	$AABb$ red/am	$AAbb$ red/v	$AaBb$ red/am	$Aabb$ red/v
aB	$AaBB$ red/am	$AaBb$ red/am	$aaBB$ rug/am	$aaBB$ rug/am
ab	$AaBb$ red/am	$Aabb$ red/v	$aaBb$ rug/am	$aabb$ rug/v

Fig. 52. Transmisión independiente de dos pares de caracteres en la dominancia completa

Cruzamiento de un guisante que posee semillas redondas y amarillas con un guisante que tiene semillas verdes y rugosas. En el cuadrado se representan todos los fenotipos y genotipos en F_2

segregación dihíbrida. En la fig. 52 se hallan representadas 16 combinaciones genotípicas de los descendientes que surgen al combinarse las cuatro variedades de gametos. La ley de la transmisión independiente de las parejas de alelos constituye el fundamento de la variabilidad combinatoria que se origina a partir del cruzamiento en todos los animales y plantas.

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* es uno de los objetos excelentes en las investigaciones genéticas que tiene una serie de méritos. Se reproducen en condiciones de laboratorio, una pareja de moscas en un solo tubo de ensayo produce decenas de descendientes. A una temperatura de 25 °C la vida de una descendencia dura 10 días. Sus células contienen cuatro parejas de

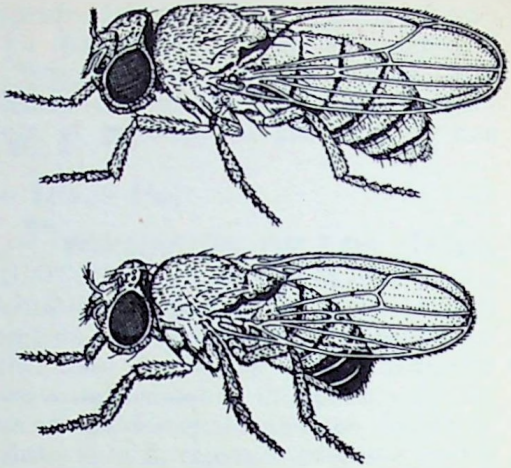


Fig. 53. Aspecto general de los individuos adultos de la *Drosophila melanogaster*

A—hembra;
B—macho (según Muller)

cromosomas. La morfología de la *Drosophila*, su comportamiento y particularidades fisiológicas se han estudiado minuciosamente. En la fig. 53, están representados la hembra (*A*) y el macho (*B*) de la *Drosophila*. La longitud de las moscas adultas (imago) es igual a 2—3 mm. Las hembras adultas pesan alrededor de 1,5 mg y los machos 0,8 mg. Los ojos de la hembra contienen alrededor de 780 omatidios y los del macho, alrededor de 740. En la parte superior de la cabeza se encuentran dispuestos tres ojos (ocelos). El tórax de la Drosophila está formado por tres segmentos fusionados, que son, a saber: el protórax que posee el primer par de patas, el

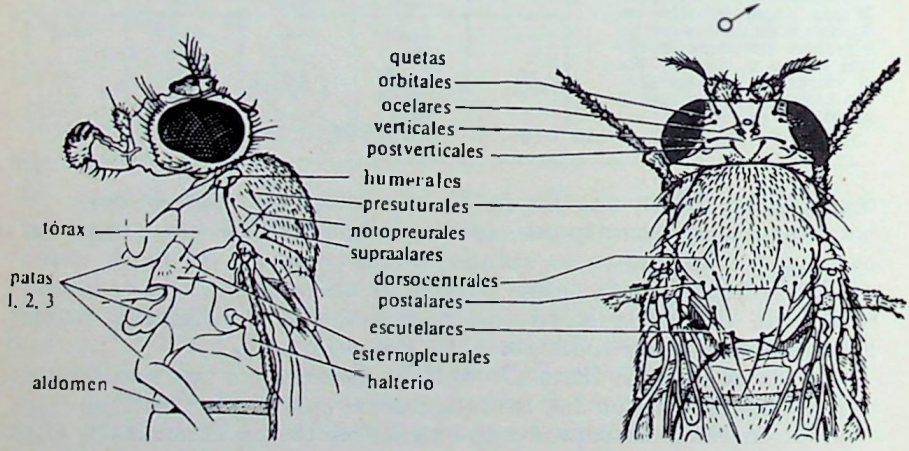


Fig. 54. Cuadro detallado de la morfología del macho de la *Drosophila* (según C. Bridges)

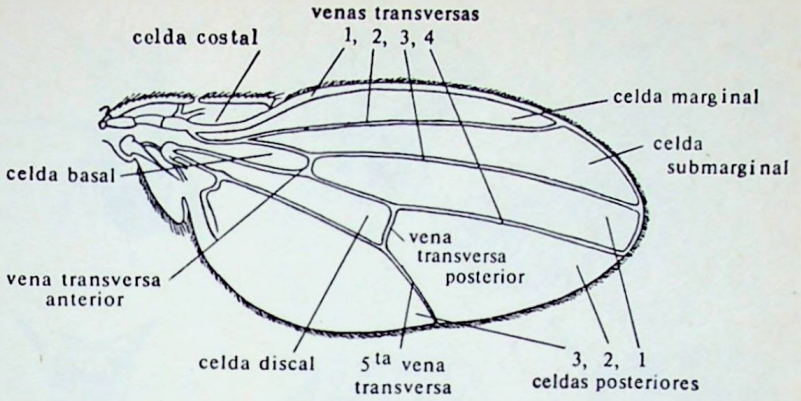


Fig. 55. Ala de la *Drosophila* (según C. Bridges)

mesotórax en que se articula el segundo par de patas, y las alas y el metatórax con un tercer par de patas y un par de halterios. La fig. 54 muestra los detalles de la estructura del cuerpo de la *Drosophila* y además la disposición característica de las grandes quetas. La figura del ala de la *Drosophila* también es muy específica, el ala contiene cinco venas transversas y dos longitudinales (fig. 55). Los genitales exteriores de ambos sexos también son característicos y se diferencian notablemente uno del otro (fig. 56). En la fig. 54 y 56 se emplean los símbolos ♀ y ♂, el primero de los cuales determina el sexo femenino, es un símbolo que desde la antigüedad se considera como un espejo con la manecilla de la Diosa de la belleza Venus, el segundo determina al sexo masculino y representa un escudo y una lanza del Dios de la guerra Marte.

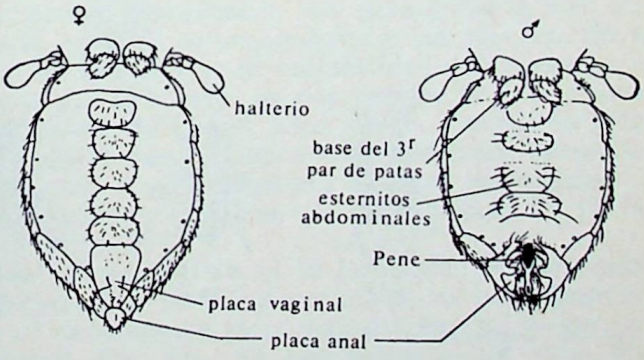


Fig. 56. Morfología del abdomen y de los genitales externos en la hembra (♀) y el macho (♂) (según C. Bridges)

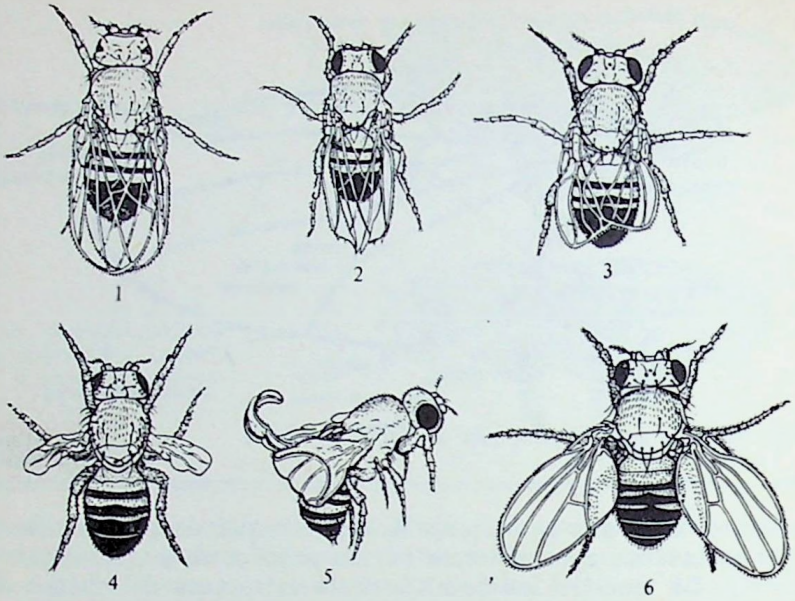


Fig. 57. Mutaciones de las formas de los ojos y las alas en la *Drosophila*

1—ojos estrechos (*Bar*), dominante; *2*—alas cortadas (*cut*), recesivo; *3*—alas rudimentarias (*rudimentary*), recesivo; *4*—alas vestigiales (*vestigial*), recesivo; *5*—alas rizadas (*Curley*), dominante; *6*—alas desplegadas (*Dichaete*), dominante (según Wallace)

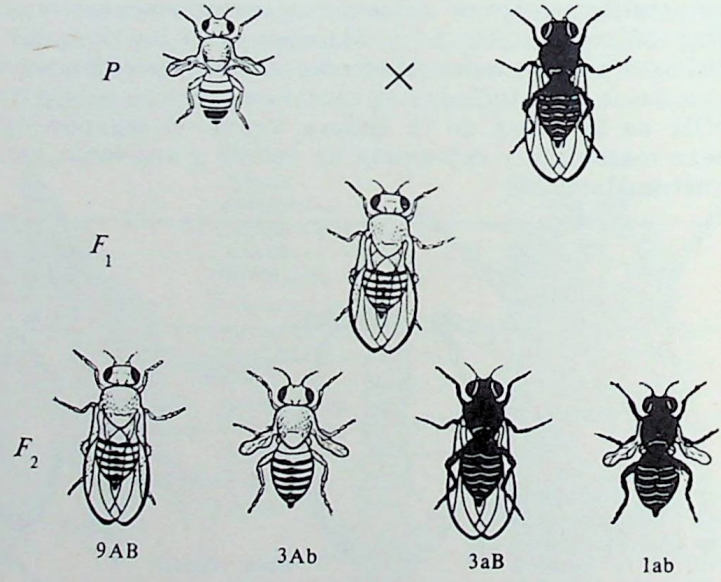


Fig. 58. Segregación dihíbrida en la *Drosophila*

Cruzamiento: macho gris (*A*) con alas vestigiales (*b*) y hembra negra (*a*) con alas normales (*B*). Se muestra el fenotipo F_1 y cuatro fenotipos F_2, que aparecen como resultado de la combinación independiente de los pares de alelos. Los fenotipos F_1 y F_2 están representados solamente por hembras. Los machos poseen los mismos caracteres

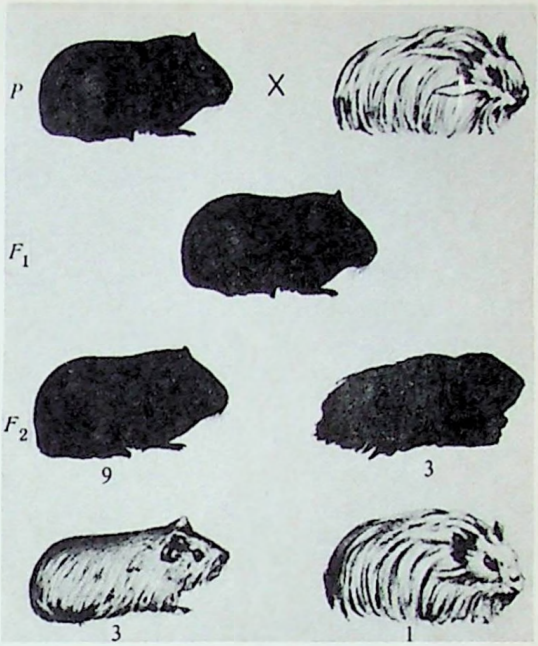


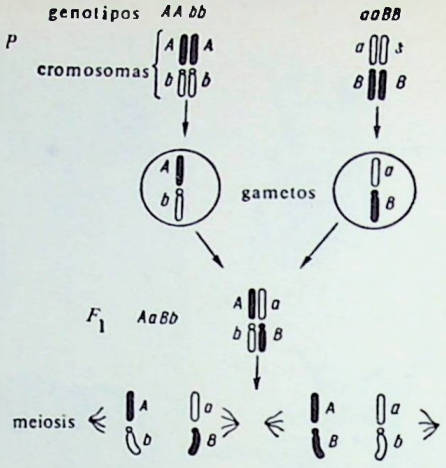
Fig. 59. Segregación dihíbrida para la coloración y el carácter del pelaje en los cobayos

Se cruzaron: un individuo negro de pelaje corto (*AABB*) con uno de pelaje largo blanco (*aabb*). Se muestran los fenotipos del híbrido del F_1 y cuatro fenotipos del F_2: 9*AB*, 3*Ab*, 3*aB*, 1*ab* (según Castle)

En la *Drosophila* se han obtenido miles de mutaciones, que cambiaron el color y la forma de sus ojos, la coloración del cuerpo, la configuración de las alas, su morfología, la disposición de las quetas, las particularidades del comportamiento, etc. La fig. 57 ilustra una serie de formas mutantes que se refieren a las alteraciones de los ojos, alas, y del abdomen. Todas las leyes mendelianas de la herencia se confirman formidablemente en los experimentos con la *Drosophila* (fig. 58).

La transmisión independiente de las parejas de alelos y la variabilidad combinatoria provocada por ésta posee la más amplia difusión en la genética de los animales y las plantas. En la fig. 59 se expone un ejemplo de la variabilidad combinatoria al cruzar los cobayos. La existencia de dos parejas de cromosomas portadores de dos pares de alelos, hace que la meiosis en estos diheterocigotos conlleve regularmente a la aparición de cuatro variedades de gametos. La combinación libre de los mismos en los procesos de fecundación culmina con la formación de 16 variedades de cigotos (fig. 60).

Una condición imprescindible en la formación de las cuatro variedades de gametos en los diheterocigotos, es la disposición de ambos alelos de cada una de las parejas en los loci de los cromosomas homólogos (fig. 61). Es precisamente por esto, que



F_2

gametos F_1	AB	Ab	aB	ab
AB	AA BB	AA Bb	Aa Bb	Aa Bb
Ab	AA Bb	AA bb	Aa Bb	Aa bb
aB	Aa BB	Aa Bb	aa BB	aa Bb
ab	Aa Bb	Aa bb	aa Bb	aa bb

Fig. 60. Fundamentos citológicos de la segregación dihíbrida. Herencia de dos pares de cromosomas, en cada uno de los cuales se localiza una pareja de alelos

Se muestra la formación de los gametos progenitores, la meiosis y la formación de los gametos del híbrido. En el cuadrado están representadas las combinaciones de los cromosomas en F_2

mediante la meiosis, los alelos dentro de cada pareja se separan obligatoriamente uno del otro. La pareja de alelos *A* y *a* divergen en diferentes células, lo mismo sucede con la *B* y *b*. Por cuanto la separación de las parejas se efectúa independientemente, es lógico que el alelo *A* puede ir tanto hacia aquellos gametos a donde llegó el alelo *B*, como hacia aquellos donde fue a parar el *b*. Igualmente sucede con el alelo *a* que se combina con la misma probabilidad en los gametos, tanto con el alelo *B* como con el *b*.

Mendel descubrió las leyes de la segregación dihíbrida en experimentos puramente hibridológicos, tomando como ejemplo

el guisante. En el siglo XX fue demostrada su carácter universal para todas las plantas y animales. Las investigaciones citogenéticas detectaron las causas internas de estas leyes, demostrando que éstas radican en las regularidades de la transmisión de las estructuras celulares a través de las generaciones. Lo fundamental, aquí, está condicionado por la localización de los genes en los

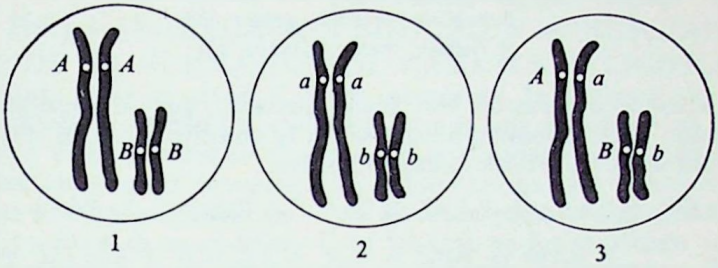


Fig. 61. Disposición de dos pares de alelos en dos parejas de cromosomas *1, 2*—en las formas homocigóticas iniciales; *3*—en los diheterocigotos

cromosomas, las leyes de la meiosis que conllevan a la aparición de las células sexuales haploides y los principios de la combinación probabilística entre las distintas variedades de gametos en los procesos de fecundación.

SEGREGACIÓN TRIHÍBRIDA Y POLIHÍBRIDA. Mendel realizó experimentos, en los cuales las variedades del guisante se diferenciaban por la forma de las semillas, el color de los cotiledones y la coloración de la piel de la semilla. Todas las 687 semillas obtenidas mediante este tipo de cruzamiento mostraban caracteres dominantes, es decir la forma redonda de las semillas (*A*), la coloración oscura de los cotiledones (*B*) y el color gris pardo de la piel de las semillas (*C*). Los caracteres recesivos fueron las semillas rugosas (*a*), el color verde de los cotiledones (*b*), y la piel blanca (*c*).

En este caso la triheterocigosis *AaBbCc* se debió a que las tres parejas de alelos se distribuyeron en las tres pares de cromosomas. La combinación independiente de los cromosomas de diferentes parejas conduce a la formación en el triheterocigoto de ocho variedades de gametos:

ABC	*Abc*
ABc	*aBc*
AbC	*abC*
aBC	*abc*

La unión casual de los gametos del triheterocigoto trae como consecuencia la aparición en F_2 de 64 clases de descendientes. La

distribución de estas clases según el fenotipo tuvo la siguiente forma:

27 redondas, amarillas, grises *ABC*
9 redondas, amarillas, blancas *ABc*
9 redondas, verdes, grises *AbC*
9 rugosas, amarillas, grises *aBC*
3 redondas, verdes, blancas *Abc*
3 rugosas, amarillas, blancas *aBc*
3 rugosas, verdes, grises *abC*
1 rugosa, verde, blanca *abc*

Mendel determinó con plena justeza, que la segregación trihíbrida para el fenotipo representa la combinación de tres segregaciones monohíbridas independientes:

$$27ABC + 9ABc + 9AbC + 9aBC + 3abC + 3aBC + 3Abc + 1abc = (3A + 1a)(3B + 1b)(3C + 1c)$$

Basándonos en la transmisión independiente de diferentes parejas de alelos, podemos representar cualquiera segregación compleja como producto de una multiplicación del número correspondiente de las segregaciones monohíbridas independientes. La fórmula general de la segregación polihíbrida para el fenotipo tiene la forma $(3 : 1)^n$, donde n es igual al número de parejas de caracteres por los cuales transcurre la segregación. Para la segregación monohíbrida esta fórmula adopta la forma $(3 : 1)^2$, para la dihíbrida, $(3 : 1)^2$, para la trihíbrida, $(3 : 1)^3$, para la tetrahíbrida $(3 : 1)^4$, para la pentahíbrida $(3 : 1)^5$, etc. La segregación para el genotipo adquiere la forma $(1 : 2 : 1)^n$, donde n es el número de parejas de alelos segregados.

En las segregaciones complejas encontramos un inmenso campo de diversidad genética combinatoria, que se origina en forma de recombinaciones genéticas valiéndonos de conjugaciones independientes de los cromosomas entre los límites de uno u otro número de pares cromosómicos existentes. Así, durante la segregación en 10 parejas de cromosomas que contienen diez pares de alelos, el número de fenotipos alcanza una dimensión igual a 1024 (2^{10}). En la herencia intermedia, cuando los homocigotos (AA) se diferencian por su fenotipo de los heterocigotos (Aa), el número de clases de individuos fenotípicamente diferentes en este cruzamiento alcanza 590 049 (3^{10}). El ser humano posee 23 parejas de cromosomas. Cuando las poblaciones humanas están saturadas de diferentes alteraciones hereditarias, en cada par de cromosomas existen diferentes alelos mutantes. En la segregación respecto a las 23 parejas de alelos el número de fenotipos alcanza una dimensión fabulosa igual a 2^{23}, y la cantidad de genotipos, a 3^{23}. Además, es necesario considerar que algunas de las parejas cromosómicas humanas no contienen un par de alelos, sino centenas de éstos. Como resul-

tado surge una gran variabilidad de recombinaciones hereditarias en el hombre. Cada ser humano posee una individualidad hereditaria exclusiva. Sobre la Tierra no existen dos personas idénticas en cuanto a su herencia se refiere; excepto los gemelos monovitelinos, donde un óvulo fecundado con un genotipo único, da inicio al surgimiento de dos seres nombrados gemelos.

PRUEBAS BIOLÓGICAS DIRECTAS DE LA SEGREGACIÓN DIHÍBRIDA MENDELIANA A NIVEL DE LA FORMACIÓN DE GAMETOS Y CIGOTOS.

Anteriormente fueron citados datos acerca de la segregación a nivel del polen en el maíz y mediante el análisis tetrádico en los musgos, que dieron pruebas directas de la validez de los principios mendelianos sobre la segregación monohíbrida. En la actualidad se han obtenido iguales pruebas directas para la segregación dihíbrida y aún más complejas. Este trabajo se ha realizado con especial evidencia con el hongo ascomiceto *Neurospora*. En las tres últimas décadas este hongo inferior (moho del pan) se ha convertido en el objeto clásico de las investigaciones genéticas.

Los hongos inferiores crecen formando filamentos ramificados y anastomosis llamadas hifas, que constituyen el micelio del

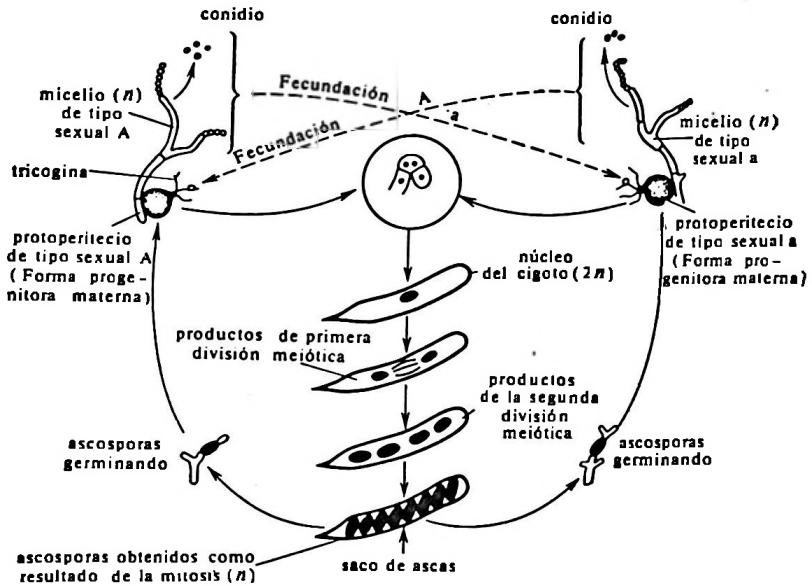


Fig. 62. Ciclo biológico de la *Neurospora crassa* (según Wagner y Mitchell)

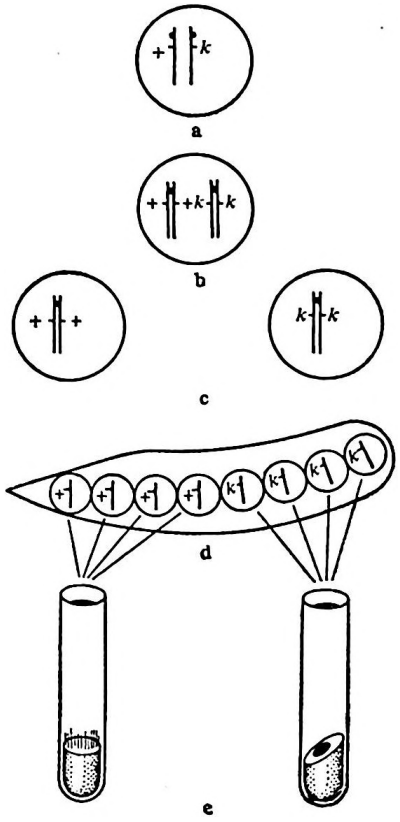


Fig. 63. Herencia de una pareja de alelos en la *Neurospora*

Alelo +, un crecimiento aéreo común del micelio; alelo *K*, crecimiento en forma de una colonia plana en el agar; *a*—célula embrionaria heterocigótica inicial del número diploide (+/*K*), *b*—segregación de los cromosomas en las cromátidas en la profase de la meiosis; *c*—primera división meiótica, formación de las células después de la separación de los homólogos; *d*—segunda división meiótica, separación de las cromátidas hermanas, transcurso de otra mitosis, que conlleva a la formación de ocho ascosporas haploides. Cuatro ascosporas con alelo + (a la izquierda) y cuatro con el alelo *K* (a la derecha); *e*—crecimiento común del micelio (a la izquierda) y colonia plana (a la derecha)

hongo. Los tabiques de las células en el interior del micelio poseen unas aberturas, así que el citoplasma del hongo se encuentra unido. Sus células son multinucleares siendo haploides algunos de los núcleos. En condiciones determinadas las hifas de las distintas líneas de la *Neurospora* se unen formando heterocariones, o sea, células que contienen núcleos de diferentes constituciones genéticas. Las hifas pueden formar esporas asexuales, tanto multinucleares (macroconidios), como mononucleares (microconidios). Las esporas germinan y se transforman en micelios. Existen dos tipos de hongos que se cruzan entre sí (sexuales) *A* y *a*. En el medio apropiado los hongos forman cuerpos fructíferos llamados protoperitecios y tricoginas (fig. 62). El cruzamiento ocurre en el caso en que un conidio del sexo opuesto se fusione con una tricogina.

Después de que el núcleo del conidio pasa al protoperitecio, se encuentra con el núcleo del huésped. Ambos núcleos, que son de carácter sexual opuesto, sufren una serie de mitosis. Los núcleos

de organismos de diferentes sexos se distribuyen apareadamente y después se fusionan. Tras lo descrito inmediatamente comienza la meiosis, que conlleva a la aparición de cuatro núcleos haploides. Después de ocurrir una mitosis, aquí surgen ocho ascosporas que se distribuyen en una asca con completa regularidad, reflejando el orden de la división meiótica. El peritecio contiene alrededor de 300 ascas. Con ayuda de un micromanipulador pueden extraerse de la asca algunas ascosporas para obtener de cada una de éstas un micelio.

Al cruzar una línea normal de *Neurospora* (+) poseedora de un crecimiento aéreo del micelio, con una línea de *Neurospora* que se diferencie por crecimiento compacto (*k*) (colonias planas en un medio de cultivo), en los peritecios se forman células heterocigóticas diploides (+/*k*). En la primera división meiótica los cromosomas homólogos (uno con el gene + y otro con el gene *k*) divergen en diferentes células (fig. 63, *c*). En la segunda división se forman cuatro esporas: dos con el gene + y dos con el *k*. Después de concluir la mitosis, de originarse y formarse las ascoesporas, en una mitad de la asca se encuentran cuatro esporas con el gene + y en la otra, la misma cantidad con el gene *k* (fig. 63 *d*).

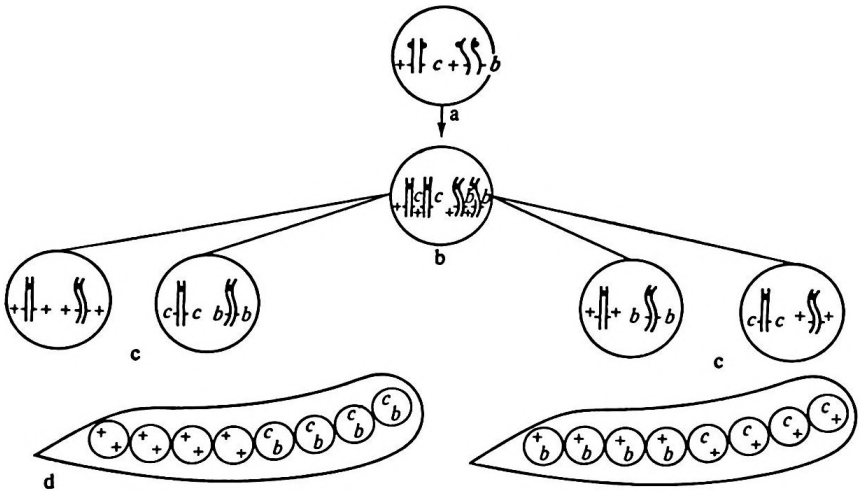


Fig. 64. Herencia de dos pares de alelos en la *Neurospora*

Facultad de sintetizar la vitamina B_{12} (+). Mutación que conduce a la pérdida de esta facultad (*b*). Coloración normal de los conidios (+) y coloración anaranjada (*c*)
a—célula diheterocigótica diploide inicial; *b*—célula después de la segregación de cada cromosoma en las cromátidas; *c*—resultado de la primera división meiótica que trae consigo la formación de cuatro tipos de ascos con dos esporas para cada uno (a la derecha y a la izquierda) durante la separación independiente de los alelos en las dos parejas de cromosomas; dos tipos de ascosporas por cuatro en cada asco (a la izquierda y a la derecha) después de la segunda división meiótica

Esto es una prueba directa más de la justeza de la hipótesis de Mendel acerca de la distribución de los alelos en los híbridos y de los datos citológicos sobre el papel genético de la meiosis.

El mismo cuadro evidente de la existencia de células de distintas variedades, que se diferencian por sus particularidades genéticas, surgidas como consecuencia de las divisiones meióticas, se manifiesta también en los casos más complejos de la segregación. Por ejemplo, al cruzar líneas de *Neurosporas* que han perdido la capacidad de sintetizar la vitamina B (tiamina), pero que poseen una coloración normal en los conidios (el genotipo de la línea *b*/*b*; +/+), con una línea normal para la síntesis de la vitamina, pero que tiene conidios de color anaranjado (el genotipo de la línea +/+; *c*/*c*) conlleva a la aparición de diheterocigotos (+/*b*; +/*c*). Como resultado de la primera división reductora (fig. 64, *b*) se forman dos tipos posibles de ascas. En una de éstas se combinan dos células: una con genes ++ y la otra con *cb* (fig. 64, *c*). La segunda asca (fig. 64, *c*) contiene células del genotipo +*b* y +*c*. Después de concluir la segunda división meiótica y la mitosis en dos de estas ascas se realiza la segregación completa con respecto a dos parejas de alelos. Esta segregación, como debe suceder durante la meiosis en el diheterocigoto, produce cuatro variedades de gametos de igual cantidad 1:1:1:1 (4 ++; 4 *cb*; 4 + *b*; 4 + *c*).

Preguntas para discutir

5-1. ¿Qué es un cruzamiento dihíbrido?

5-2. Describa la proporción de los fenotipos durante la segregación dihíbrida en la F_2.

5-3. ¿Cuál es la ley de la transmisión independiente de una pareja de caracteres?

5-4. Escriba la fórmula de la segregación para el genotipo en el cruzamiento dihíbrido.

5-5. ¿Cuáles serán los genotipos de los diheterocigotos, cuántas variedades de gametos y en qué proporción forman individuos diheterocigóticos?

5-6. ¿Qué es la variabilidad combinatoria, cuáles son los factores que provocan su aparición en las plantas y los animales? Exponga ejemplos de la obtención de nuevas combinaciones durante la segregación dihíbrida.

5-7. Describa los fundamentos citológicos de la segregación dihíbrida

5-8. ¿Qué es una segregación trihíbrida, tetrahíbrida y polihíbrida?

5-9. ¿Cuántas clases de fenotipos surgen en la segregación trihíbrida y en qué proporción?

5-10. ¿Cuántas clases de gametos y cigotos forma un trihíbrido?

5-11. Escriba las fórmulas generales para el número de clases de fenotipos, genotipos, variedades de gametos, las fórmulas de segregación para el genotipo y el fenotipo en dependencia del número de parejas de alelos segregados.

5-12. ¿Qué cantidad de fenotipos y genotipos se originan en el hombre, si éste cuenta con la presencia de 23 parejas de cromosomas en condiciones de que cada pareja de cromosomas es portadora de un solo par de alelos diferenciables?

5-13. Describa el ciclo biológico de la *Neurospora*.

5-14. ¿En qué residen las pruebas directas, a nivel de la formación de gametos y cigotos, de la segregación mendeliana dihíbrida, en los experimentos con la *Neurospora*?

5-15. Al cruzar un guisante, que posee caracteres dominantes, la coloración de los cotiledones amarilla y la forma redonda de las semillas, con otro guisante portador de dos caracteres recesivos, los cotiledones verdes y las semillas rugosas, se obtuvieron en F_1, todas las plantas con semillas redondas y amarillas. En F_2 aparecieron cuatro categorías de descendientes: redondas y amarillas 585, rugosas y amarillas 199, redondas y verdes 195, y rugosas y verdes 63. Determine el carácter de la segregación y la fórmula por la cual ésta ocurre. ¿Cuántos y cuáles gametos produjeron individuos de F_1?

5-16. 81 individuos con semillas amarillas y cotiledones redondos fueron tomados de la generación F_2 del cruzamiento anterior (pregunta 5-15) y cruzados con homocigotos recesivos: verdes y rugosos. ¿Qué puede esperarse de este cruzamiento y en qué proporción dentro de los 81 individuos van a representarse los diferentes genotipos de los individuos iniciales?

5-17. Plantas de tomate con caracteres dominantes, color rojo de los frutos, tallos altos, piel lisa, fueron cruzadas con plantas que tenían alelos recesivos, color amarillo de los frutos, enanismo, y piel pubescente. En F_1 se obtuvieron las siguientes categorías de plantas: 31 rojas, altas y lisas, 33 rojas altas y pubescentes, 29 amarillas, altas y lisas; 34 rojas, enanas y lisas, 28 rojas, enanas y pubescentes. ¿Cuáles serán los genotipos de las plantas? ¿Cuántos gametos formó el progenitor con caracteres dominantes? ¿Cómo se denomina el tipo de cruzamiento empleado en este problema?

5-18. ¿Qué gametos se formarán en los progenitores de los siguientes genotipos:

AA	*BB*	*CC*	*DD*
AA	*Bb*	*CC*	*DD*
AA	*Bb*	*CC*	*Dd*
Aa	*BB*	*Cc*	*Dd*
Aa	*Bb*	*Cc*	*Dd?*

5-19. Determine el carácter de la siguiente generación para el fenotipo de las plantas de cada uno de los cinco fenotipos del problema 5-18 en el caso en que se efectúe el cruzamiento analítico y la autopolinización.

5-20. Durante la autofecundación en la segunda generación, se obtuvo la segregación para el genotipo 1:2:2:4:1:2:1:2:1. Indique el genotipo del progenitor. Caracterice la segregación para el fenotipo en la dominancia completa.

VI Interacción de los genes

Después del descubrimiento de Mendel, el siguiente paso de importancia fue la revelación del hecho, de que los genes interaccionan entre sí en los procesos del desarrollo del individuo. Este fenómeno fue detectado a comienzos del presente siglo por Bateson y después obtuvo el más amplio desarrollo. La elaboración de las cuestiones de la acción mutua entre genes conllevó al estudio moderno sobre el programa genético como un sistema integral.

La historia de la cuestión sobre la interacción entre los genes comenzó con el estudio de casos, cuando los caracteres muestran que están condicionados con la acción de dos genes.

FORMACIÓN DEL CARÁCTER NUEVO EN LA INTERACCIÓN DE DOS GENES DOMINANTES. Uno de los primeros ejemplos de interacción génica fue la herencía de la cresta en forma de nuez en las gallinas. Esta forma de cresta se desarrolla solamente en el caso de que los dos genes dominantes (*A* y *B*) interaccionen entre sí en el individuo dado. Dos pares de alelos aseguran la aparición de cuatro formas de cresta en las gallinas (fig. 65): en nuez, en roseta, en guisante y sencilla (laminada). Al cruzarse un individuo con cresta en guisante (*AAbb*) con uno de cresta en roseta (*aaBB*) todos los híbridos de la primera generación tendrán una nueva forma de cresta en nuez. En la segunda generación se inicia la segregación por la fórmula: 9 en nuez (*AB*) + 3 en roseta (*aB*) + 3 en guisante (*Ab*) + 1 con cresta sencilla (*ab*).

GENES COMPLEMENTARIOS. En el caso, cuando el carácter surge solamente ante la presencia de dos genes no alelomorfos dominantes, cada uno de los cuales

Fig. 65. Forma de las crestas en los gallos

1—sencilla (*ab*);
2—en guisante (*Ab*);
3—en nuez (*AB*);
4—en roseta (*aB*) (según Bateson)

no se manifiesta independientemente, los genes se denominan complementarios.

El maíz es una de las plantas más estudiadas desde el punto de vista genético. La elaboración de la genética del maíz ha conllevado a grandes logros económicos, garantizado una productividad excepcionalmente alta de las semillas de origen híbrido. El ciclo biológico del maíz concluye con la formación del grano (fig. 66). Este contiene un pequeño embrión diploide que representa el tejido esporofítico de la nueva generación. La película dura (pericarpio) que envuelve el grano es un tejido diploide perteneciente al endosperma materno que está compuesto por células triploides. La capa superficial de estas últimas contiene gránulos de aleurona y grasa, y las restantes almidón. La mazorca de maíz contiene hasta 1000 granos, cada uno de los cuales es un representante de una futura planta de la nueva generación. El desarrollo del grano continúa alrededor de 50 días, durante este tiempo el tamaño del grano aumenta 1 400 veces. Una de las ventajas de las investigaciones genéticas del maíz es la posibilidad de analizar la segregación directamente en los granos obtenidos en las mazorcas de la planta F_1.

Entre las variedades de maíz existen algunas en que el grano está teñido de color púrpura, debido a la presencia de antocianinas en la capa de aleurona. Otras variedades tienen granos blancos. Quedó demostrado, que el desarrollo del pigmento (antocianina) se controla por la acción conjunta de varios genes complementarios. Si en estado homocigótico existe aunque sea un alelo rece-

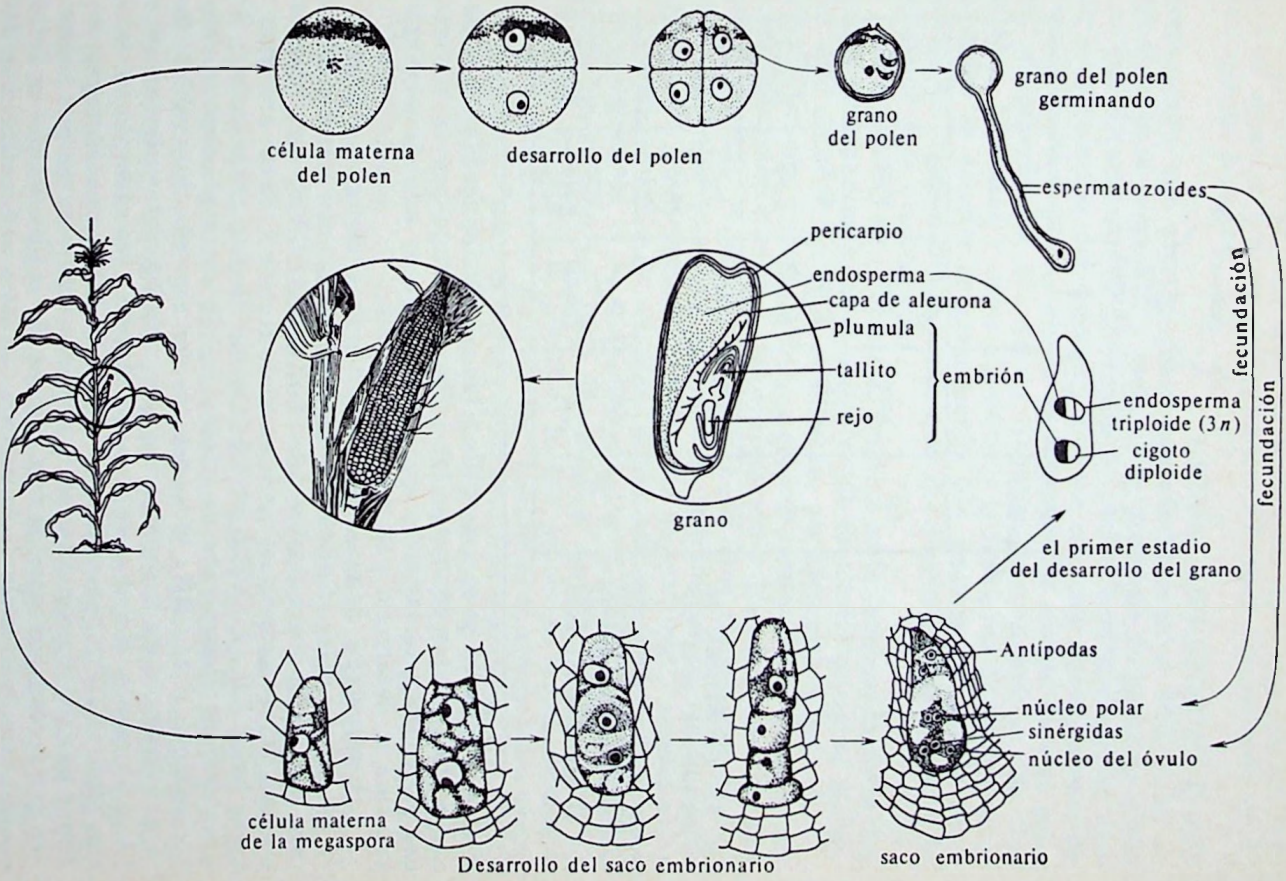
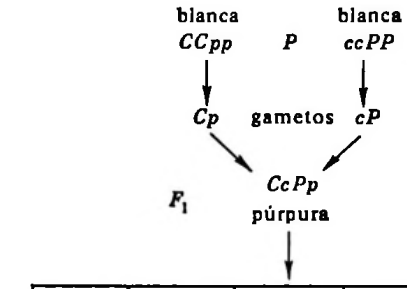


Fig. 66. Ciclo biológico del maíz (según T. A. Kisselbach)



F_2

gametos F_1	CP	Cp	cP	cp
CP	$CCPP$ purp	$CCPp$ purp	$CcPP$ purp	$CcPp$ purp
Cp	$CCPp$ purp	$CCpp$ blanc	$CcPp$ purp	$Ccpp$ blanc
cP	$CcPP$ purp	$CcPp$ purp	$ccPP$ blanc	$ccPp$ blanc
cp	$CcPp$ purp	$Ccpp$ blanc	$ccPp$ blanc	$ccpp$ blanc

Fig. 67. Cruzamiento de variedades de maíz con granos blancos

Segregación 9 : 7. El desarrollo del pigmento depende de la presencia obligatoria de un gene dominante en cada uno de los diferentes pares de alelos

sivo, el pigmento no se desarrolla y las semillas serán blancas. Los alelos dominantes controlan las diferentes etapas en la síntesis del pigmento y bastaría con que se eliminara un eslabón para que suprima el desarrollo posterior del carácter.

Las variedades de maíz que poseen granos púrpuras y pigmento del mismo color en el tallo y las hojas contienen como mínimo tres genes complementarios dominantes *AACCRR*. Las plantas homocigóticas aunque sea para un alelo recesivo, o sea, con genotipos *aaCCRR*, *AAccRR* y *AACCrr* no tienen antocianina. Si ocurriera el cruzamiento de cualquiera de estas plantas con un homocigoto *AACCRR*, entonces, en la segunda generación de híbridos se produce la segregación: por cada 3 plantas pigmentadas 1 sin pigmento. En el caso de la dihibridez, por ejemplo, al cruzar plantas *CCrr* con *ccRR*, en F_2 tiene lugar una segregación, donde estarán pigmentadas solamente aquellas plantas que poseen dos genes complementarios dominantes. Es evidente, que en estas condiciones la fórmula de la segregación para el fenotipo adoptará la forma 9:7 (fig. 67). En el caso del cruzamiento trihíbrido

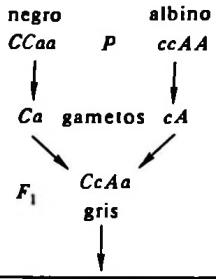
(*AACCRR* y *aaccrr*) las formas pigmentadas en la segunda generación deben contener los tres genes dominantes, es decir, tener en el genotipo los genes *ACR*, y la fórmula de la segregación tendrá el aspecto: por cada 64 plantas, 27 serán pigmentadas y 37 con granos blancos.

GENES SUPRESORES. Quedó demostrado que existen genes que condicionan el desarrollo de los caracteres normales, a pesar de la presencia de genes no alélicos que determinan el desarrollo de particularidades que se desvían en ausencia del supresor. El gene supresor puede carecer de otra influencia que no sea la de reprimir los efectos de otro gene no alelomorfo de él. En la Genética contemporánea de los hongos, bacterias y otros organismos el fenómeno de los genes supresores se estudia en gran escala. Sin embargo, el propio fenómeno fue descubierto a comienzos del presente siglo durante la epistasis y la criptomería.

El fenómeno de la epistasis consiste en la interacción entre dos genes dominantes e independientes de diferentes pares de alelos. De esta manera, un gene dominante, por ejemplo, el gene *A*, inhíbe la acción de otro gene no alélico dominante *B* lo que trae como resultado que si se encuentran presentes en el fenotipo los genes *AABB*, se manifiesten los caracteres controlados por el gene *A*. Estos genes no alelomorfos inhibidores se denominaron epistáticos y los reprimidos se llaman hipostáticos.

El cruzamiento de un caballo gris homocigótico con uno alazán, produce en la F_1 todos los caballos de color gris. En la segunda generación por cada 16 caballos aparece un promedio de 12 grises, 3 negros y 1 alazán, lo que prueba el fenómeno de la epistasis. El alelo del pelaje gris *C* recubre el efecto de otros genes independientes para el color por lo cual, los individuos *CB* resultan grises. Cuando el alelo *B* se encuentra en el genotipo *cB*, éste se libera de la epistasis por parte del alelo *C* y el caballo adquiere un color negro, mientras que el doble recesivo *cb*, tiene un color alazán.

En el caso, cuando el carácter controlado por el gene epistático concuerda con las particularidades del doble recesivo en la generación F_2, surge una segregación con respecto al fenotipo en una proporción de 13:3. Así, el color blanco de las livornesas depende del gene epistático *A*, mientras que el carácter similar en la raza de Wiandotte depende de la acción del alelo recesivo *b*. El cruzamiento de las livornesas homocigóticas (*AABB*) con las de Wiandotte homocigotos (*aabb*) produce diheterocigotos (*AaBb*) que poseen una coloración blanca. En la descendencia de estos híbridos surge una segregación en las gallinas pigmentadas y en las blancas, donde un 13/16 serán blancas y de éstas 12/16 de los individuos contienen el gene *A* y 1/16 son homocigotos para el alelo *b*. 3/16 resultan negras, ya que en su genotipo (*aB*) no existe el gene epistático *A* manifestando su acción el gene de la pigmentación



F_2 gametos F_1	*CA*	*Ca*	*cA*	*ca*
CA	*CCAA* gris	*CCAa* gris	*CcAA* gris	*CcAa* gris
Ca	*CCAa* gris	*CCaa* negro	*CcAa* gris	*Ccaa* negro
cA	*CcAA* gris	*CcAa* gris	*ccAA* albino	*ccAa* albino
ca	*CcAa* gris	*Ccaa* negro	*ccAa* albino	*ccaa* albino

Fig. 68. Cruzamiento de ratones negros, que poseen el factor básico del color (*C*), con albinos, en los cuales el factor del color agutí (*A*) se encuentra en estado cripto mérico, o sea en una proporción 9 : 3 : 4

(*B*). El fenómeno de la criptomería se origina en aquellos casos en que el gene recesivo enmascara la acción del gene no alelo dominante.

En el ratón salvaje el color gris se ha denominado aguti. En la cría de agutí se obtuvieron muchos matices de colores diferentes, surgiendo a menudo la mutación del albinismo, cuando los animales presentan la piel blanca y los ojos rosados, ya que la ausencia de pigmento en el iris de los ojos traslucen los vasos sanguíneos de la retina. Los albinos siempre son homocigotos con respecto al gene recesivo *a*. El color agutí se debe a la presencia de dos pigmentos. En un pelo la parte principal es de color negro y en la superior fina se observa un anillo amarillo. El abdomen del animal contiene un pigmento más claro. En caso de que se produzca una mutación el anillo de pigmento amarillo del pelo desaparece, desarrollándose el color negro. Esta mutación es recesiva con relación al gene agutí. El cruzamiento de los ratones negros (*CCaa*) con albinos (*ccAA*) produce en la primera generación una descendencia con el color agutí (fig. 68), lo que ocurre debido a

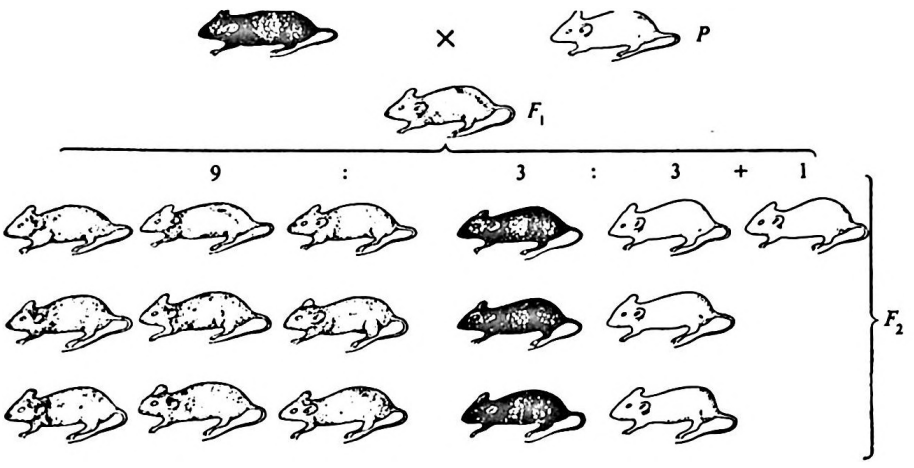
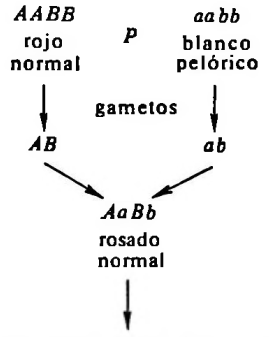


Fig. 69. Acción del supresor recesivo de la coloración durante la segregación dihíbrida en los ratones

La segregación se produce por la fórmula: 9 grises, 3 negros y 4 blancos

que el gene agutí (A) que se encontraba en estado criptomérico en los albinos ($ccAA$), se combina en los híbridos con el gene principal del color C, lo que conduce a la manifestación del anillo amarillo en el pelo. Cuando los ratones diheterocigóticos agutí de la F_1 se cruzan entre sí, obtenemos la generación F_2 compuesta por tres grupos fenotípicos en una proporción de: 9 agutí, 3 negros y 4 albinos. En este caso el genotipo $ccAA$ (3/16) y el $ccaa$ (1/16) poseen un fenotipo idéntico, ambos son albinos (fig. 69), ya que el estado criptomérico del gene A enmascarado bajo la acción del gene c conlleva a la aparición del un atavismo. Este experimento da respuesta a la interrogante que durante largo tiempo inquietó a los investigadores en el siglo XIX. La línea de ratones que tenían coloraciones negra y blanca, al cruzarse, produjeron ratones que poseen el color gris agutí original.

MANIFESTACIÓN INTERMEDIA. En la heterocigosis (Aa) la interacción entre los alelos A y a, no en todos los casos, cabe dentro de los marcos del concepto de la dominancia y la recesividad. Existen casos de manifestación intermedia cuando el organismo para uno u otro carácter cuantitativo ocupa una posición media entre ambos progenitores. Durante la manifestación intermedia de los caracteres la fórmula de la segregación dihíbrida también está sujeta a cambios. El ejemplo más simple de este tipo de modificación de segregación dihíbrida para el fenotipo es el caso, cuando una pareja de alelos (Aa) se caracteriza por la manifestación intermedia. En este caso la



F_2

gametos F_1	AB	Ab	aB	ab
AB	$AABB$ rojo n	$AABb$ rojo n	$AaBB$ ros n	$AaBb$ ros n
Ab	$AABb$ rojo n	$AAbb$ rojo p	$AaBb$ ros n	$Aabb$ ros p
aB	$AaBB$ ros n	$AaBb$ ros n	$aaBB$ bl n	$aaBb$ bl n
ab	$AaBb$ ros n	$Aabb$ ros p	$aaBb$ bl n	$aabb$ bl p

Fig. 70. Segregación dihíbrida en boca de dragón al heredarse la forma y el color de la flor

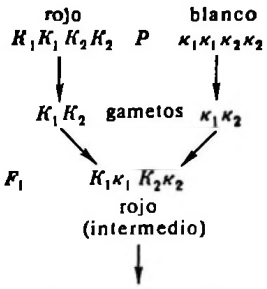
Proporción 3:6:3:1:2:1. Los heterocígotos *Aa* producen una manifestación intermedia: coloración rosada. La forma normal (*B*) domina sobre la pelórica (*b*)

segregación para el fenotipo tendrá la forma siguiente:

$3AB + 6AaB + 3aB + 1Ab + 2Aab + 1ab.$

Un ejemplo de este tipo de segregación se muestra en la fig. 70. Este se refiere a la herencia de la coloración y la forma de la flor en la boca de dragón. La forma normal de la flor domina sobre la pilórica pero por la coloración del heterocigoto *Aa*, obtenido durante el cruzamiento de las rojas con las blancas manifiesta un carácter intermedio, tendrá un color rosado. Como resultado, por la pareja de alelos *Bb* en F_2 con respecto al fenotipo transcurre una segregación $3B + 1b$, y por la de alelos *Aa*, en forma: $1AA + 2Aa + 1aa$. Al combinarse éstos se obtiene la fórmula de segregación para el fenotipo expuesta anteriormente, teniendo en cuenta ambas parejas de alelos.

POLIMERÍA. Cuando uno de los caracteres se forma bajo la influencia de varios genes equivalentes a la vez, estamos ante la presencia del fenómeno de la polimería, y los genes se denominan polímeros. En este caso se ha aceptado el principio de la acción unívoca de los genes sobre el desarrollo del carácter. El significado relevante de la herencia polimérica está ligado a que a esta se encuentra supeditada la transmisión a través de las generaciones de los caracteres cuantitativos. Por ejemplo, en la avena, el color rojo de las semillas se determina por varios genes polímeros. Estos genes actúan en un sentido sobre el desarrollo del carácter. El grado de desarrollo de la coloración depende de la cantidad de genes polímeros. Si existen dos genes dominantes que influyen unívocamente sobre el desarrollo de la coloración roja del grano la segregación con respecto a la ausencia o presencia de la coloración se produce por la fórmula: 15 rojas por 1 blanca (fig. 71). El grado de la coloración



F_2 gametos F_1	K_1K_2	$K_1\kappa_2$	κ_1K_2	$\kappa_1\kappa_2$
K_1K_2	$K_1K_1K_2K_2$ (4)	$K_1K_1K_2\kappa_2$ (3)	$K_1\kappa_1K_2K_2$ (3)	$K_1\kappa_1K_2\kappa_2$ (2)
$K_1\kappa_2$	$K_1K_1K_2\kappa_2$ (3)	$K_1K_1\kappa_2\kappa_2$ (2)	$K_1\kappa_1K_2\kappa_2$ (2)	$K_1\kappa_1\kappa_2\kappa_2$ (1)
κ_1K_2	$K_1\kappa_1K_2K_2$ (3)	$K_1\kappa_1K_2\kappa_2$ (2)	$\kappa_1\kappa_1K_2K_2$ (2)	$\kappa_1\kappa_1K_2\kappa_2$ (1)
$\kappa_1\kappa_2$	$K_1\kappa_1K_2\kappa_2$ (2)	$K_1\kappa_1\kappa_2\kappa_2$ (1)	$\kappa_1\kappa_1K_2\kappa_2$ (1)	$\kappa_1\kappa_1\kappa_2\kappa_2$ (0)

Fig. 71. Segregación dihíbrida al heredarse los caracteres cuantitativos en la avena

La existencia de la coloración se determina por la presencia por lo menos de un gene dominante, por eso la segregación para la presencia o ausencia del pigmento adopta la forma 15 : 1. Entre las plantas de granos rojos hay genotipos con diferente cantidad de genes dominantes lo que conlleva a un grado distinto de intensidad de la coloración. Dentro de los círculos se encuentra el número de dominantes en el genotipo

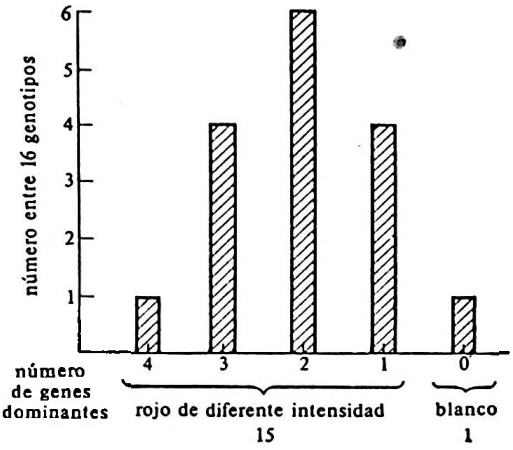


Fig. 72. Distribución de los genotipos que poseen distinto número de genes dominantes poliméricos durante la segregación dihíbrida

depende del número de genes polímeros dominantes (K_1 y K_2).

Existen genotipos con 4, 3, 2 y 1 dominantes o carentes de los mismos, expresándose esta proporción mediante una distribución binomial (fig. 72).

CARÁCTER Y GENE A LA LUZ DE LOS DATOS DE LA INTERACCIÓN DE LOS GENES. Los fenómenos de la interacción de los genes demuestran que el desarrollo de cada carácter está basado en la influencia de una serie completa de genes. La acción de un gene es sólo un elemento dentro del complejo desarrollo del individuo. El análisis genético de cualquier carácter descubre paso a paso su complejidad hereditaria condicionada por la acción de muchos genes. Este principio se ha probado brillantemente en muchos ejemplos y en particular en el análisis genético de las pigmentaciones.

El análisis genético mediante la investigación de mutaciones cada vez más nuevas relacionadas a un carácter dado, descubre paulatinamente su fundamento hereditario complejo. Ya al investigar la acción mutua entre genes en la segregación dihíbrida quedó demostrado que el desarrollo de un carácter puede depender de la acción de dos genes. Sin embargo, en la realidad, la base genética de muchos caracteres tiene un mecanismo mucho más complejo. De la existencia de un gene u otro, podremos enterarnos después de que éste sufra una mutación. La pareja de alelos que aquí se origina: A, gene inicial normal y a, mutante que se hereda por el esquema monohíbrido mendeliano.

Examinemos el fundamento genético de la pigmentación en los ratones. Entre los ratones salvajes grises apareció la mutación del albinismo. Este hecho demostró la existencia de un gene principal para la pigmentación. En el ejemplo de criptomería analiza-

do anteriormente, se ha mostrado la existencia de dos genes que influyen en la aparición de la coloración gris. Para esto resulta necesaria la acción del gene principal de la pigmentación *C* y del gene *A* que provoca la aparición de un anillo amarillo en el pelo, lo que garantiza el desarrollo del color gris. Posteriormente, en las poblaciones de ratones, fueron hallados algunos con color pardo, lo que demostró la existencia de un gene *B*, que por sí mismo asegura la manifestación del pigmento negro en el pelo, y su mutación al alelo recesivo (*b*) conlleva, en los homocigotos *bb*, a que se desarrolle el color pardo.

Los ratones grises salvajes tienen un color uniforme en toda la piel, que es provocado por la acción del gene *S*. Después de producirse la mutación de este gene a su alelo recesivo *s*, en los homocigotos surgen diferentes tipos de monteado que alteran el color normal del pelaje.

Existe una mutación singular en los ratones que provoca el pegamiento de los gránulos de pigmentos negros y pardos en el pelo. Los individuos homocigóticos para el alelo recesivo *dd* se caracterizan por tener una pigmentación debilitada. Esto demuestra que en los individuos normales existe un gene *D* que posibilita la distribución uniforme de los gránulos de pigmento. La mutación del gene *P* conduce a la aparición del alelo recesivo *p*, que causa la manifestación de los ojos rosados, disminuyendo a la vez la cantidad de pigmento oscuro y pardo en la piel y atenúa de esta forma su color. Esto es una prueba de que en el genotipo del ratón salvaje entra el gene *P*. Existe aún una serie de genes que influyen en el color de la piel de los ratones.

Este análisis genético descubrió que para el desarrollo del color gris salvaje es necesario todo un complejo de genes. Si consideramos solamente a los seis genes descritos anteriormente, entonces la fórmula para el genotipo del ratón salvaje con relación a su color tendrá la forma: *CABDPC*. Los experimentos del cruzamiento, demostraron que con la existencia de dominancia en todos los pares de alelos se han encontrado 32 genotipos que se diferencian fenotípicamente y que producen una amplia variabilidad de colores en la pigmentación de diferentes líneas de ratones.

Todos estos genotipos no se manifiestan si el individuo es homocigoto para el alelo recesivo del factor fundamental de la coloración (*cc*). En estos albinos puede ocultarse la herencia para cualquier aberración del color en los ratones. Sin embargo, en los cruzamientos correspondientes, esta herencia puede ser detectada a través de la segregación mendeliana.

En el ser humano también existe un gene principal para la pigmentación. El alelo recesivo de este gene en los homocigotos, conlleva a la aparición de personas albinas. Con la presencia del alelo dominante para la pigmentación surge la posibilidad de la síntesis del pigmento. La cantidad de pigmento depende de la acción de muchos genes polímeros que provocan toda una gama

de variabilidad desde las razas humanas blanca hasta las pigmentadas oscuras. Los matrimonios entre representantes de las razas blanca y negra demostraron las diferencias hereditarias puramente cuantitativas de la pigmentación de sus pieles.

Si tratamos sobre un carácter tan importante en las plantas, como es la capacidad de elaborar la clorofila, también detectaremos que la capacidad de sintetizar esta sustancia se encuentra condicionada por la acción de todo un complejo de genes. En la mutación de cualquiera de estos genes surge un alelo recesivo y la planta homocigótica para este alelo resulta desprovista de la capacidad de sintetizar la clorofila. Estas formas han sido denominadas albinóticas. Así, en el maíz se han detectado 15 genes no alelos distintos, cuyas mutaciones producen albinos. Los grupos de genes diferentes producen en sus mutaciones alelos recesivos, que condicionan solamente el desarrollo del pigmento amarillo. Existen mutaciones verde claras, rayadas, manchadas, amarillo verdosas, etc. En general la genética del albinismo demostró que el desarrollo normal de la clorofila en el maíz depende de la acción mutua como mínimo de 75 genes dominantes. En este caso, la inmensa cadena de la biosíntesis se apoya en la acción de varias decenas de genes. Este principio tiene relación con la esencia de la condicionalidad hereditaria de cualquier carácter en los animales y plantas. Los éxitos de la Genética bioquímica resultaron últimamente tan significativos, que permitieron describir en términos genéticos la cadena de biosíntesis de muchos compuestos celulares importantes para la vida. La determinación, por medio de métodos químicos, de las cadenas de reacciones bioquímicas que conllevan a la síntesis de determinados metabolitos y mediante métodos genéticos de los genes que controlan cada eslabón de esta cadena de reacciones por separado, ha hecho posible conjugar las leyes genéticas y las regularidades metabólicas. Más adelante se mostrará que en las bacterias fue descubierta la fusión espacial de los genes en los cromosomas que responden por las reacciones que transcurren consecutivamente en una cadena de síntesis.

De esta manera, el fundamento hereditario de cada carácter es extraordinariamente complejo. Cuando se estudia la segregación monohíbrida, dihíbrida u otra segregación simple, se opera solamente con las diferencias elementales en los sistemas genotípicos complejos.

PLEIOTROPÍA. En los fenómenos de interacción de los genes, reside una de las ideas más importantes de la Genética moderna, que indica la integridad de la acción del genotipo en el desarrollo individual de un organismo. El reconocimiento del principio de la acción mutua entre genes encierra también la idea de que por cuanto todos los genes en una u otra medida se encuentran unidos entre sí en su acción sobre el desarrollo del carácter, por consiguiente, un gene también influye sobre varios caracteres.

Anteriormente se expuso el ejemplo de la mutación de alas vestigiales en la *Drosophila*. Sin embargo, la influencia de este gene no se limita tan sólo a afectar el disco imaginal del ala, sino que éste también altera bruscamente el desarrollo de la misma. Un análisis detallado demostró, que en los individuos homocigóticos para esta mutación existe una serie de alteraciones, es decir, el desarrollo de los halterios, las grandes quetas en la parte dorsal adoptan una posición vertical en lugar de la horizontal, varía la forma de las espermatecas en la hembra, la duración de la vida y la fecundidad son menores, etc.

En el ser humano es conocido el gene dominante que provoca el cuadro característico del síndrome de Marfan (fig. 73). Estas personas se distinguen por tener un crecimiento exagerado de las extremidades, especialmente de las piernas y los dedos de las manos (dedos de araña). Además, este mismo gene dominante provoca un defecto en el cristalino de los ojos.

Otro ejemplo de gene pleiotrópico en el hombre es la mutación de células falciformes. En este caso la mutación del alelo normal conduce a una variación en la estructura molecular de la proteína hemoglobulínica. Como consecuencia los eritrocitos de la sangre pierden la capacidad de transportar el oxígeno y en lugar de tener la forma esférica normal, se tornan falciforme (fig. 74). En las personas homocigóticas para este alelo se desarrolla una anemia aguda, muriendo generalmente al nacer. De esta manera este alelo es recesivo con relación a la anemia. Sin embargo, este gene posee una manifestación muy singular en estado heterocigótico. Las personas heterocigóticas para este alelo presentan parcialmente la anemia de glóbulos falciformes, sin alterarse el transporte del oxígeno y tienen una elevada resistencia al parásito del paludismo, surgiendo de esta forma una situación paradójica, cuando el gene letal en el hombre en estado homocigótico, obtiene, a pesar de ello, una amplia difusión. La causa de que esto ocurra es que las personas heterocigóticas se enferman menos de paludismo tropical. En este caso la selección está orientada hacia los heterocigotos, cuyo número en las poblaciones es incomparablemente mayor que el de homocigotos con respecto a esta mutación. Este fenómeno fue descubierto en las regiones del mar Mediterráneo y en algunas otras.

En los fenómenos de la pleiotropía tiene lugar un enlace correlativo completo de los caracteres. En aquel caso en que el gene provoque a la vez caracteres beneficiosos y nocivos, ante los seleccionadores que desean emplear el carácter favorable surgen problemas muy difíciles.

GENES MODIFICADORES. Se sobreentiende por genes modificadores aquellos que aceleran o debilitan la manifestación de otros genes. Bajo este enunciado se agrupan todas las categorías de interacción génica. Sin embargo, el término «genes modificadores» se refiere a aquellos genes que

provocan formas transitorias de interacción. Así, el gene supresor reduce por completo los caracteres normales. Los genes modificadores aceleran o debilitan la aparición del carácter.

El estudio de la pigmentación en los mamíferos demostró que junto a las formas extremas que tienen un desarrollo normal del pigmento o la ausencia de éste (albinos), existe una serie completa de formas transitorias genotípicamente condicionadas: grisáceas, pardas, amarillas, etc. En la mayoría de los casos los genes modificadores no tienen una manifestación propia, variando el efecto de otros genes no alélicos.

En la Genética de los caracteres cuantitativos existe una gran influencia de los genes modificadores que aumentan o debilitan la manifestación del carácter. La variabilidad para el carácter cuantitativo es propia a los individuos de cualquier población dentro de una especie, variedad o raza. Parte de esta variabilidad es provocada por la influencia del medio ambiente, sin embargo, en una gran medida su aparición se debe a la segregación según genes modificadores. El estudio de la fertilidad, el peso, tamaño y de otros caracteres demuestra que la curva de la variabilidad de éstos responde generalmente a la distribución binomial. En estas condiciones mediante la selección a través de la acumulación de

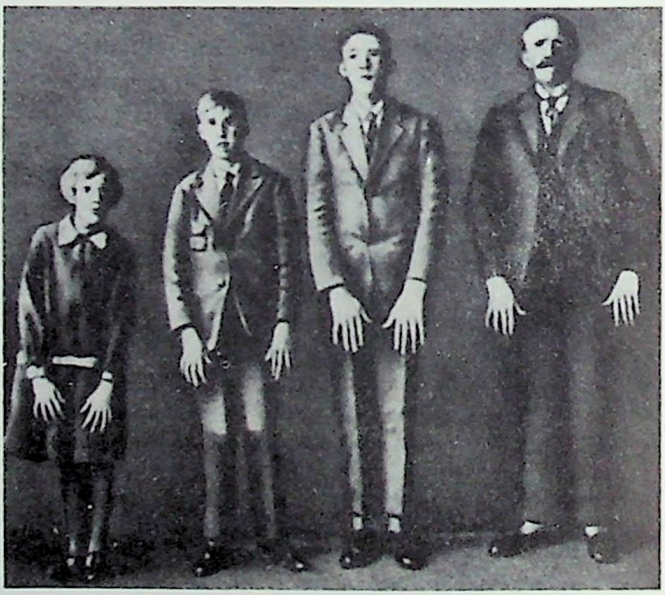


Fig. 73. Mutación pleiotrópica (dedos de la araña) en el ser humano

El gene dominante que provocó la alteración del desarrollo en el padre, manifestó su acción en los hijos, produciendo una perturbación del crecimiento de las extremidades y un defecto en el cristalino del ojo

Fig. 74. Forma falciforme de los eritrocitos de la sangre en las personas homocigóticas para el gene de los glóbulos falciformes

genes modificadores puede alcanzarse una manifestación elevada o pequeña de cada uno de los caracteres cuantitativos.

El empleo de la genética de los modificadores descansa en la base de los múltiples éxitos en la utilización de los métodos de hibridación en la Selección. El cruzamiento conduce a un enriquecimiento notable de los híbridos con genes modificadores. La envergadura de la variabilidad aumenta, y la selección alcanza resultados elevados.

EQUILIBRIO GÉNICO. A la luz de los datos acerca de la acción mutua entre genes, se hizo evidente que el desarrollo del individuo transcurre sobre la base de un programa genético integral, determinado por todo un conjunto de genes propios de un individuo dado. Todos los genes interaccionan y en este sentido se comportan como genes modificadores. Para designar la existencia de un sistema génico armónico de acción mutua, se ha introducido el concepto de equilibrio génico.

La idea sobre el equilibrio génico indica que para el desarrollo normal del individuo es necesario que el programa genético posea un número de genes completo, cuya acción se equilibre mediante determinadas proporciones cuantitativas. Este requisito ha sido demostrado por aquellos casos en que la pérdida de algunos genes conduce a la muerte del individuo, como también en muchos casos para la categoría de letales. La letalidad del individuo se origina

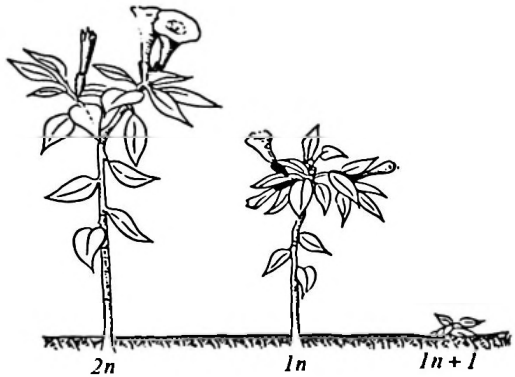


Fig. 75. Desarrollo de la planta *Datura* al presentar una dotación diploide de cromosomas ($2n$), un número haploide (n) y con la alteración del equilibrio del juego haploide al añadírsele un cromosoma ($n + 1$) (según Sátina y otros, 1937)

cuando un gene que influye sobre una función esencial, pierde su funciones normales a consecuencia de una mutación.

El equilibrio cuantitativo en la acción del programa genético se manifiesta vivamente al variar el número cromosómico. En un número haploide de cromosomas está contenido una dotación completa de genes, mas el desarrollo cabal del individuo exige dos números haploides. En la fig. 75 observamos que los individuos haploides ($1N$) ceden ante los diploides ($2N$). En caso de que se le adicione un cromosoma ($1N + 1$) al número haploide, se le añade parte del programa genético localizado en el cromosoma dado al número completo de genes. La alteración del equilibrio génico acarrea consecuencias graves. La planta $1N + 1$ resulta oprimida violentamente.

En el cruzamiento entre distintas especies la unión en híbridos de diferentes sistemas genéticos trae aparejada la aparición de la esterilidad. En los límites de la especie el cruzamiento de individuos que no son consanguíneos, por medio del enriquecimiento de los efectos génicos de los híbridos, puede conducir al fortalecimiento del complejo de caracteres los cuales benefician al individuo, que puede estar más adaptado al medio ambiente o poseer un valor elevado para la selección. Este tipo de interacción de sistemas de genes o de algunos alelos recibió el nombre de heterosis o vigor híbrido.

En general, el estudio del fenómeno de la interacción de los genes es la vía para la comprensión del sentido de la acción del programa genético en el desarrollo del individuo.

VALORACIÓN DE CONFIANZA DE LOS DATOS DE LA SEGREGACIÓN EN EL ANÁLISIS DE LA TRANSMISIÓN DE LOS GENES. Al elaborar materiales concretos tanto de campo, como experimentales de la segregación en la generación de híbridos, desempeña un papel impor-

tante la valoración de confianza de la coincidencia de los datos reales con una u otra fórmula de segregación. En la Genética para este objetivo se emplea ampliamente un método que ha sido denominado método de ji cuadrado (χ^2). Analicemos este método tomando el ejemplo de la tabla 2.

Tabla 2

Cálculo por el método de (χ^2) para probar la confianza de la fórmula de la segregación

Altura y forma de las plantas	Número obtenido	Número de cada clase esperado en la segregación según la fórmula de 9 : 3 : 3 : 1 (e)	Desviación entre el número (±) obtenido y el esperado
Altas y redondas	730	711	+19
Altas y rugosas	220	237	—17
Enanas y redondas	225	237	—12
Enanas y rugosas	89	79	+10
Total	1264	1264	0

La magnitud de ji cuadrado se calcula por la fórmula: $\chi^2 = \sum \frac{d^2}{e}$, donde la letra griega Σ (sigma mayúscula) equivale al signo de la suma, d es la desviación de lo esperado y e es el número de individuos que se espera obtener por la fórmula para cada una de las clases. Sustituyemos las correspondientes magnitudes de

Tabla 3

Probabilidades (P) para varios grados de libertad

Grado de libertad	0,99	0,95	0,80	0,50	0,20	0,05	0,01
1	0,000157	0,00393	0,0642	0,455	1,642	3,841	6,635
2	0,020	0,103	0,446	1,386	3,219	5,991	9,210
3	0,115	0,352	1,005	2,366	4,642	7,815	11,345
4	0,297	0,711	1,649	3,357	5,989	9,488	13,277
5	0,554	1,145	2,343	4,351	7,289	11,070	15,086
6	0,872	1,635	3,070	5,348	8,558	12,592	16,812
7	1,239	2,167	3,822	6,346	9,803	14,067	18,475
8	1,646	2,733	4,594	7,344	11,030	15,507	20,090
9	2,088	3,325	5,380	8,343	12,242	16,919	21,666
10	2,558	3,940	6,179	9,342	13,442	18,307	23,209
15	5,229	7,261	10,307	14,339	19,311	24,996	30,578
20	8,260	10,851	14,578	19,337	25,038	31,410	37,566
25	11,524	14,611	18,940	24,337	30,675	37,652	44,314
30	14,953	18,493	23,364	29,336	36,250	43,773	50,892

la tabla 2 y obtendremos el valor siguiente:

$$\chi^2 = \sum \frac{d^2}{e} = \frac{19^2}{711} + \frac{17^2}{237} + \frac{12^2}{237} + \frac{10^2}{79} = \frac{2560}{711} = 3{,}6.$$

Ahora es necesario valorar χ^2 desde el punto de vista de la probabilidad. En la tabla 3 se exponen los datos de 30 grados de libertas. Las proporciones entre éstos y la magnitud χ^2 permiten calcular la confianza de la probabilidad que se designa con el símbolo P. El número de grados de libertad se determina como una magnitud igual al número de clases menos la unidad (n — 1). En el caso que analizamos este número es igual a 3 (4—1).

Buscando por la línea horizontal de 3 en la tabla 3 el valor de la cifra cercana a la magnitud χ^2, observaremos que en este caso P es igual a 0,95. Esto indica la coincidencia de los datos reales con la distribución esperada de los individuos por clases de la segregación dihíbrida.

La magnitud P es igual al 5% (0,05) según la tabla 3 y demuestra que sólo en un caso de 20 puede tener lugar un error. El resultado de la valoración debe considerarse como de confianza en las columnas P = 0,99 (0,01) — P = 0,95 (0,05).

Preguntas para discutir

6-1. ¿Qué es la interacción entre los genes? Describa este principio basándose en el ejemplo de la herencia de las crestas en las gallinas.

6-2. ¿Qué es el fenómeno de la epistasis? ¿En qué caso surge la proporción fenotípica por la fórmula 12:3:1 y por la fórmula 13:3? ¿Cuáles genes se denominan supresores?

6-3. ¿En qué radica el principio de la interacción complementaria de los genes? ¿Por qué en algunos casos de la herencia en la segregación dihíbrida, la proporción de las clases fenotípicas adopta la forma 9:7 y en la trihíbrida 27:37?

6-4. Caracterice el fenómeno de la criptomería. ¿Por qué, al cruzar ratones negros y blancos, pueden aparecer híbridos de color gris, de coloración aguití? ¿Cuándo se origina la segregación por la fórmula 9:3:4?

6-5. ¿Qué es la herencia polimérica? Explique la segregación por la fórmula 15 : 1 en la avena. ¿Tendrán todas las plantas rojas en este caso una intensidad idéntica del color? Describa las causas de la variación del grado de pigmentación en las diferentes formas F_2.

6-6. ¿Cómo varía la fórmula de la segregación dihíbrida en la manifestación intermedia en una de las parejas de alelos?

6-7. ¿De qué manera el análisis genético descubre la complejidad de los fundamentos hereditarios del desarrollo de un carácter? Describa este fenómeno, basándose en el ejemplo del color gris en los ratones y la elaboración de la clorofila en las plantas.

6-8. ¿Qué bases existen para considerar que el genotipo de un organismo determina por completo el desarrollo del individuo? ¿Representa el gene un prototipo del carácter?

6-9. ¿En qué consiste la pleiotropía? Exponga ejemplos de acción pleiotrópica de los genes en la *Drosophila*, el guisante y el ser humano.

6-10. ¿En qué consiste el método ji cuadrado? ¿En qué valores de confianza de la probabilidad (P) las diferencias entre los datos concretos obtenidos y los esperados resultan indudablemente reales?

6-11. Al cruzar un individuo con cresta en guisante con uno en roseta, todos los híbridos de F_1 tiene la cresta en nuez, que surge debido a la interacción de dos alelos dominantes A y B. ¿Cuál será la descendencia del cruzamiento de los individuos de F_1 entre sí y en el caso del cruzamiento con un individuo homocigoto de cresta en roseta?

6-12. Al cruzar plantas de una variedad de avena con coloración negra de los granos, con otra variedad de granos blancos, en F_1 obtendremos sólo plantas con coloración gris de los granos. En F_2 aparece la segregación siguiente: 291 plantas con color negro del grano, 74 con color gris y 24 con granos blancos. ¿En qué reside la particularidad de esta segregación? ¿Por qué aquí aparecen granos grises? ¿Cómo se llama la interacción de los genes en este tipo de herencia? Escriba la fórmula de segregación para el fenotipo.

6-13. Una planta con flores blancas de una variedad se cruza con una también de flores blancas de otra variedad. Todas las plantas de F_1 tienen flores coloreadas. En la segunda generación entre 321 plantas aparecieron 260 con flores blancas y 61 coloreadas. ¿Qué tipo de segregación se deduce de lo antes expuesto? Escriba la formula de la segregación. ¿Qué tipo de supresión se efectúa en este cruzamiento junto a la acción del supresor dominante?

6-14. Una variedad de maíz con granos blancos se cruza con una planta de otra variedad también de granos blancos. Las plantas de F_1 resultan pigmentadas. En la segunda generación 145 plantas tienen granos pigmentados y 113 plantas, granos blancos. ¿En qué consiste la interacción de los genes en esta segregación? Escriba la fórmula de la segregación.

6-15. Al cruzar ratones negros con blancos, aparece una generación compuesta por ratones de color gris salvaje agutí. En la segunda generación aparecen 199 ratones grises, 67 negros y 88 blancos. ¿En qué consiste la particularidad de la segregación? ¿Cómo se denomina este tipo de acción mutua entre genes? Escriba la fórmula de la segregación.

6-16. Al cruzar plantas de dos variedades diferentes que poseen flores pigmentadas en F_1 todas las plantas resultaron también pigmentadas. En la segunda generación aparecieron 466 plantas coloreadas y 32 con flores blancas. Indique la fórmula de la segregación. ¿Tendrán todas las plantas coloreadas un grado igual de pigmentación de las flores? ¿Cuántas plantas en F_2 tendrán un color más intenso?

6-17. Al cruzar ratones grises con albinos se produjo una segregación: grises 41, negros 43 y blancos 82. ¿Cuál será el genotipo del ratón gris? ¿Qué tipo de cruzamiento se efectuó en este ejemplo?

6-18. En la *Drosophila* fueron cruzadas moscas de ojos rojos y cuerpo negro con moscas grises de ojos pardos. En F_1 todos los individuos tuvieron ojos rojos y cuerpo gris. En F_2 aparecieron 10 349 moscas normales (grises con ojos rojos) 355 grises de ojos pardos, 3 551 negras de ojos rojos y 687 negras de ojos pardos. Empleando el método ji cuadrado valore en qué medida esta segregación corresponde a la esperada por la fórmula 9 : 3 : 3 : 1.

VII Alelismo

La interrelación de los alelos en los heterocigotos, cuando el gene A dominaba sobre el alelo a, fue el primer caso de introducción en el fenómeno de la interacción de los genes en los procesos de desarrollo del individuo. El posterior análisis de la naturaleza de las funciones de los alelos ajerció gran influencia tanto en la comprensión de la naturaleza de la acción de los genes, como en la esencia de la organización del material genético.

ALELOS MÚLTIPLES. Las diferencias en los alelos surgen mediante las mutaciones. Si un alelo inicial normal, A, se transforma por mutación en el alelo recesivo a, tiene lugar una mutación directa. En el caso en que el alelo mutante a se transforma en el inicial normal A, nos encontramos ante el fenómeno de reversión. Sin embargo, la investigación de la genética de los alelos, ha demostrado que los procesos de las mutaciones de éstos de ningúm modo se limitan a las transformaciones mutuas de A en a ($A \rightarrow a$, $a \rightarrow A$). Quedó establecido que las mutaciones del gene A, lo mismo que las del gene a, pueden producir una serie de estados diferentes en estos genes. Gracias a estas mutaciones se origina el fenómeno del alelismo múltiple. Surge lo que se denomina una serie de alelos compuestos por A, A^1, A^2, A^3, A^4, . . . La diversidad de los estados resistentes de un mismo gene, que ocupan un determinado locus en el cromosoma y, representados tanto en forma de un alelo normal, como en la de una mutación ha recibido el nombre de alelos múltiples.

Este fenómeno es uno de los más importantes en el proceso de la variabilidad hereditaria de los organismos demostrando que cada gene puede cambiar diversamente, influyendo de distintas maneras sobre el desarrollo de los caracteres.

Un importantísimo rasgo de la genética en las series alelomórficas es que los organismos diploides pueden llevar solamente dos alelos, por eso sólo analizando todo un grupo de individuos en los cuales se hallan distribuidos los diferentes miembros de la serie alelomórfica, puede formarse una idea acerca de todos estos cambios múltiples de un gene dado (fig. 76). La serie de alelos en un grado altísimo aumenta la variabilidad combinatoria de los organismos. En el espectro de la variabilidad de los organismos se incorporan todas las variaciones condicionadas por la combinación de los genes de las series de alelos.

En *Drosophila*, las series de alelos se han estudiado en muchos genes. Entre éstas, es muy conocida la serie de alelos del gene

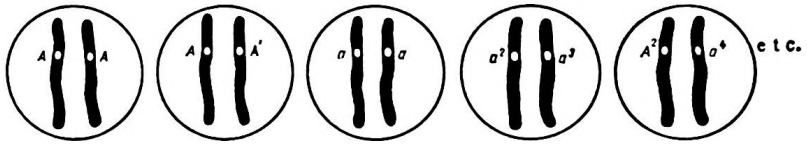


Fig. 76. Distribución de los miembros de una serie de alelos múltiples entre los cromosomas homólogos (pareja) de diferentes organismos diploides

para el color rojo (salvaje) de los ojos en los individuos adultos (gene *W*). Las mutaciones de este gene producen muchos alelos diferentes, cada uno de los cuales se caracteriza por tener una manifestación fenotípica propia. La descripción de una parte de estos alelos se aduce más abajo:

Símbolo	Manifestación fenotípica (color de los ojos)
W	Rojo (salvaje)
w	Blanco
w^i	Marfil
w^p	Perla
w^t	Débilmente teñido
w^{by}	Amarillo oscuro
w^h	Miel
w^a	Melocotón
w^{ch}	Cereza
w^e	Eosina
w^{bl}	Sangre
w^{co}	Coral

En la composición de la serie alelomórfica pueden entrar decenas de diferentes estados alélicos de un mismo gene. En algunos casos, surge una serie con un número inmenso de alelos. G. M. Beale en sus experimentos con paramecios (*Paramecium*) demostró la existencia de centenares de estados alélicos en diferentes loci, vinculados a la formación de antígenos.

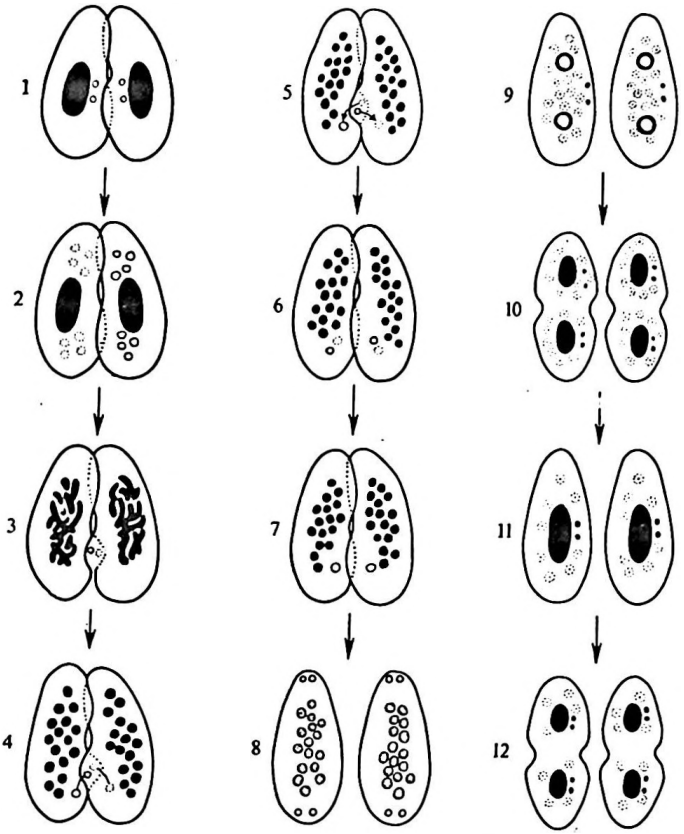


Fig. 77. Proceso sexual en *Paramecium aurelia* (según G. Beale)

La explicación se encuentra en el texto

Los paramecios son uno de los objetos más notables en la Genética moderna, particularmente, en el aspecto del análisis de la interrelación entre el núcleo y las estructuras citoplasmáticas.

El *Paramecium aurelia* es el que se ha estudiado más detalladamente. Este es un protozoo ciliado elipsoide de los más primitivos, de una longitud alrededor de 130 μ y un espesor aproximadamente de 40 μ. La célula del paramecio contiene dos núcleos diploides (llamados micronúcleos), cada uno de los cuales tiene un diámetro aproximado de 3 μ y un tercer núcleo gigante, que ha sido denominado macronúcleo. El macronúcleo tiene unas dimensiones de 20 a 50 μ conteniendo alrededor de 500 números cromosómicos. El papel del macronúcleo consiste en controlar la fisiología de la célula. Los micronúcleos garantizan la transmisión

de la información genética y sufren una serie de transformaciones complejas durante el proceso sexual.

El proceso sexual en los paramecios transcurre a 27° C durante 5—6 horas. Después de iniciarse la sinapsis, el macronúcleo se desintegra en 50 ó más fragmentos (fig. 77, 1—4) que posteriormente se destruyen por lisis en el citoplasma. Los micronúcleos experimentan la meiosis, en cuyo resultado cada uno de éstos forma una tétrada de células haploides (fig. 77, 2). En cada célula mueren siete micronúcleos haploides, quedando uno de éstos que siempre se encuentra en la zona peroral (fig. 77, 3). Esta zona es una protuberancia en la región oral que une físicamente a los dos paramecios conjugados. El núcleo restante se somete a una división mitótica formando dos núcleos, o sea, gametos (fig. 77, 4). Uno de estos núcleos es estacionario (femenino) y el otro emigra hacia su pareja (masculino) (fig. 77, 5). Después del intercambio de los núcleos los conjugantes comienzan a separarse (fig. 77, 6) y en éstos ocurre la fusión de los núcleos de los gametos en un núcleo diploide (fig. 77, 7). Este núcleo diploídico que sufre dos divisiones mitóticas y, como resultado, en cada célula se originan cuatro núcleos diploides (fig. 77, 8) dos de los cuales comienzan a aumentar su volumen (fig. 77, 9). Posteriormente cada micronúcleo se divide mediante la mitosis y después de separarse las células (fig. 77, 10) se forman individuos con dos micronúcleos y con un macronúcleo (fig. 77, 11). Para este momento los residuos del macronúcleo antiguo se transforman en «sombras» que casi por completo se destruyen por lisis. En condiciones normales cada 5 horas los paramecios se reproducen asexualmente mediante la escisión de las células. Los micronúcleos experimentan una división mitótica y en lo que respecta al macronúcleo, éste simplemente se divide en dos (fig. 77, 11—12).

Los procesos que provocan el crecimiento del macronúcleo, están ligados a la autorreproducción intensiva de los cromosomas en condiciones de la endomitosis. Por endomitosis se comprende todos aquellos casos en que la autorreproducción de los cromosomas no va acompañada de la división del núcleo, por lo que todos los cromosomas que se forman quedan dentro del mismo núcleo. Es precisamente por esta vía, que se origina el macronúcleo gigante de los paramecios.

Un gran mérito en el estudio de las interrelaciones entre el núcleo y el citoplasma que aportan los paramecios se debe a qua en éstos pude obtenerse la conjugación de los núcleos de diferentes individuos en el proceso sexual, conservarse intacto el citoplasma celular.

Al analizar los antígenos de los ciliados, T. M. Sonneborn y G. M. Beale demostraron, que el número de loci que controlan la formación de antígenos es superior a 12. La cantidad de alelos en cada locus es inmenso. Como resultado de esto, en los paramecios procedentes de diferentes poblaciones e incluso de una misma

existen números distintos de alelos con la particularidad de que no todos los alelos de los antígenos se manifiestan. Una parte significativa de estos genes en los paramecios se encuentran en estado de inhibición. El papel del supresor es realizado por uno de los componentes del citoplasma. Se ha demostrado que los antígenos, que son controlados por los genes alelos, pueden diferenciarse mucho químicamente. Con frecuencia dos tipos alélicos de antígenos se diferencian entre sí por distintos aminoácidos. En este caso, por lo visto, tuvo lugar una larga divergencia evolutiva de los alelos.

LEYES FUNDAMENTALES DE LA ACCIÓN E INTERACCIÓN DE ALELOS. La mutación de un gene puede conllevar a la aparición de un alelo que pierda completamente la capacidad de influir sobre el desarrollo de un carácter. Estos alelos recibieron el nombre de amorfos. La naturaleza de las mutaciones que conducen a la aparición de los amorfos, es de dos formas: la inactivación de un gene o su pérdida en el cromosoma. Con la falta de un gene puede originarse un fenotipo recesivo. En la mayoría de los casos, la pérdida de un gene conlleva a la aparición de un alelo letal recesivo. Los homocigotos para estos amorfos mueren. Un ejemplo de inactivación de alelos puede ser la aparición del albinismo recesivo, cuando un animal está desprovisto de pigmentos. La inactivación puede concernir no a todas las funciones del gene, sino solamente a parte de éstas. Los amorfos son recesivos completos. Cualquier alelo de una serie dada se manifestará en los heterocigotos para el amorfo.

En las mariposas europeas de la harina *Ephestia* el gene a^+ garantiza la pigmentación de las larvas y la coloración negra de los ojos del imago. La mutación a^- es amorfa, con su presencia se bloquea el desarrollo de ambos caracteres, el alelo a^k es amorfo solamente con relación a la pigmentación de las larvas. McClintock descubrió una serie de deficiencias de algunos loci en los cromosomas del maíz, que en estado homocigótico producen los mismos caracteres que las mutaciones recesivas de estos genes. Así, en el maíz, la presencia de cromosomas normales hace que las plantas desarrollen perfectamente la clorofila. La pérdida del extremo de uno de los cromosomas, hace que los homocigotos, para esta deficiencia, adquieran un color amarillo claro mientras que la ausencia de este cromómero en ambas estructuras los convierte en albinos completos.

Se ha determinado que en *Drosophila*, los individuos homocigóticos para la deficiencia de una serie de genes, desarrollan caracteres idénticos, al igual que en el caso de las mutaciones para los alelos amorfos. Esto se refiere a los genes *achaete* (ausencia de las quetas), *yellow* (cuerpo amarillo), *roughest*[2] (ojos ásperos) y *white* (ojos blancos).

Uno de los métodos que permiten diferenciar la aparición de alelos inactivos de las deficiencias, es la obtención de muta-

ciones inversas. Los alelos amorfos son capaces de transformarse por mutación en alelos normales, mientras que las deficiencias no se restablecen con ayuda de las variaciones mutacionales comunes.

La transición entre los alelos normales y los amorfos la representa una serie de alelos que influyen en el desarrollo de caracteres en el mismo sentido que los normales, pero resultan intermedios por la expresión de su efecto.

C. Stern estudió detalladamente este tipo de mutaciones en el ejemplo del gene *bobbed* de *Drosophila*, que acorta la longitud de las quetas. Si en condiciones especiales se acumulan en *Drosophila* algunos alelos recesivos, esto traerá como consecuencia el restablecimiento del desarrollo normal. El trabajo de F. M. Ritossa y de otros de 1966 demostró que la acción del gene *bobbed* está ligada a la afección parcial del nucléolo, lo que se provoca por una pérdida parcial de DNA en el cromosoma. A la luz de lo dicho queda claro por qué la acumulación de unos cuantos alelos *bobbed* en la célula conlleva al restablecimiento del carácter normal.

S. Wright ha demostrado plenamente este carácter de la acción de varios alelos que pertenecen a la serie del gene *C* en los cobayos. Se conocen cinco alelos para este gene (C, c^k, c^d, c^r, c^a) que determinan el desarrollo de una cantidad diferente de pigmento de melanina en el pelaje observando de esta manera en los genotipos heterocigóticos la aparición intermedia de éstos (tabla 4). En la

Tabla 4

Cantidad relativa de pigmentos en el pelaje de los cobayos de diferentes genotipos

Genotipo	Melanina, %	Coloración	Genotipo	Melanina, %	Coloración
C	100	Sepia oscura	c^dc^d	31	Intermedia entre sepia y clara
c^kc^k	88	Intermedia entre sepia y clara	c^dc^r	19	Idem
c^kc^d	65	Idem	c^dc^a	14	»
c^kc^r	54	»	c^rc^r	12	»
c^kc^a	36	»	c^rc^a	3	»
			c^ac^a	0	»

manifestación de los diferentes alelos de la serie *C* existen tres niveles principales: el primero, cuando en los animales se desarrolla una pigmentación completa en la presencia del alelo normal *C* tanto en estado homocigótico, como heterocigótico, ya que la acción de un gene dominante *C* es suficiente para el desarrollo del

100% de melanina, el segundo, cuando en las hetero y homocigosis de todos los alelos con excepción del alelo c^a, se observa un nivel de expresión, intermedio en diferente grado, y el tercer nivel, es la ausencia de pigmentación que se observa en el genotipo $c^a c^a$. El alelo extremo de esta serie c^a ya no es hipomorfo, sino amorfo. Las mutaciones de los alelos más débiles a los más fuertes se llaman hipermorfas. En condiciones normales es difícil detectar este tipo de mutaciones, ya que la acción fenotípica de éstas coincide con la influencia de los alelos normales.

El análisis del problema demostró que realmente el concepto de alelo normal hasta el momento no se ha diferenciado. Resultó que existe una serie de mutaciones que varían la efectividad de los alelos normales. La función de éstos puede ser superior a la de los alelos normales que se encuentran ampliamente difundidos en una población, variedad o especie dada y que son suficientes para crear las condiciones de un desarrollo normal. Estos mutantes producen mucho más productos primarios en la célula en comparación con los alelos comunes normales, o sea, que funcionalmente son hipermorfos. Además, como tales alelos mutantes, exteriormente no se diferencian unos de otros, ellos se encuentran en el espectro de las mutaciones no detectables en condiciones habituales. Para éstas, además de emplearse el término de hipermorfas, se utiliza también el de isoalelos.

N. V. Timofeev-Resovski y H. J. Muller descubrieron que en *Drosophila* el alelo normal para los «ojos rojos», que produce una amplia serie de alelos mutantes, es diferente en las distintas poblaciones geográficas. Esta diferencia fue detectada al estudiarse el carácter y la frecuencia de las mutaciones de los distintos alelos normales, así como también el grado de dominancia de éstos. C. Stern y E. W. Schaffer encontraron en *Drosophila* tres isoalelos normales diferentes del gene *cubitus interruptus*, que demostraron un grado de dominancia distinto sobre los alelos mutantes. Existen datos acerca de la presencia de isoalelos normales de los genes del hombre, lo que ha sido descubierto en la herencia de la distrofia del tejido muscular, anomalías congénitas en la forma de los huesos y de la rótula. En este caso al combinarse en las personas estas mutaciones dominantes con diferentes alelos normales, se desarrollan distintas enfermedades.

Las mutaciones que conducen a la aparición de alelos con nuevas funciones se nombran neomorfas. Hasta el momento al estudiar todos los tipos de mutaciones de los genes hemos tenido que ver con alteraciones de unas u otras funciones de los alelos normales. Los alelos mutantes estaban vinculados a las mismas funciones controladas por los alelos normales.

Debido a lo expuesto, tanto entre los alelos normales y mutantes, como entre los mutantes se detecta un cuadro de su interrelación en forma de dominancia, de manifestación intermedia, de acrecentamiento del efecto al acumularse los hipomorfos, etc.

Sin embargo, además existen mutaciones mediante las cuales los genes adquieren nuevas funciones. A. S. Serebrovski al trabajar en la inducción de mutaciones con rayos X halló en *Drosophila* un nuevo mutante dominante, que poseía alas profundamente recortadas. Este mutante poseía uno de los caracteres de los neomorfos y presentaba la dominancia completa sobre los alelos normales. La misma particularidad la poseen también muchas otras mutaciones dominantes en *Drosophila* (*Hw*—quetas en las alas, *D*—alas desplegadas y otras). Quedó demostrado mediante un análisis especial que en el caso *Hw* realmente estamos tratando con un neomorfo. Fueron obtenidas formas que tenían, junto al mutante *Hw*, uno o dos alelos normales o que no lo poseían (carencia del locus *Hw*). Todos estos genotipos produjeron individuos que no se diferenciaban entre sí por sus caracteres.

$$Hw\ (+)\ (+) = Hw/+ = Hw.$$

De esta manera, en estos casos, un alelo normal no influye en el desarrollo del carácter *Hw*, o sea, el alelo normal en estas reacciones de desarrollo, interviene como un amorfo. Este experimento, al igual que otros, demostró que mediante las mutaciones de este tipo el gene adquiere nuevas funciones que no poseía el locus normal inicial. Los mutantes de ese tipo recibieron el nombre de neomorfos.

Los mutantes que poseen el efecto de inhibir la acción de los alelos normales recibieron el nombre de antimorfos. Al aumentar la cantidad de alelos hipomorfos en la célula, el efecto se suma en el sentido de acercamiento al desarrollo normal del carácter. Sin embargo, existe otra categoría de mutaciones que aparentemente posee el mismo carácter de manifestación, o sea, conlleva al debilitamento del desarrollo normal del carácter y que a la vez se diferencia obstencialmente por sus propiedades. Estos alelos no restablecen las reacciones perdidas parcialmente, como se observan en los hipomorfos, sino que las inhiben. Como resultado del aumento de la cantidad de alelos en la célula se produce un incremento cada vez mayor de las diferencias del desarrollo normal. En el maíz se ha estudiado bien la interacción entre los alelos de la serie del gene *A*, que influyen distintamente sobre las antocianinas, antoxantinas y algunos otros pigmentos en distintos tejidos vegetales, en la aleurona y en el pericarpio del grano. El alelo A^{br} condiciona el desarrollo del color púrpura de la aleurona, a^p el de claro y *a*, incoloro. Quedó demostrado que los heterocigotos A^{br}/a desarrollan una cantidad mayor de pigmentos de color púrpura en comparación con los heterocigotos A^{br}/a^p. Por cuanto el alelo a^p se acerca más a la norma, que el alelo *a*, desde el punto de vista de la acción hipomórfica los heterocigotos A^{br}/a, deben aproximarse más a la norma que los heterocigotos A^{br}/a^p. Sin embargo, en la realidad, éstos se hallan más

distantes de la norma. Los alelos A^{br} y a^{p} alejan el desarrollo del carácter de la norma.

El mismo fenómeno ha sido detectado en *Drosophila*, en el ejemplo del gene *cubitus interruptus* (*ci*—venación cubital interrumpida). En los heterocigotos para dos alelos mutantes ci/ci^{w}, la interrupción de la vena es mayor en comparación con los ci^{w}/d (*d*—deficiencia). En este caso la presencia de un alelo mutante produce un desarrollo más cercano a la norma en comparación con los individuos que poseen dos alelos que entran entre sí en una competencia debilitando el desarrollo. A los antimorfos pertenecen aquellos alelos mutantes dominantes que inhíben el desarrollo de los caracteres normales, por ejemplo, el alelo *G* en las gallinas, que produce un color blanco mediante la inhibición de la elaboración del pigmento y una serie de otros alelos.

La característica de los alelos descrita posee un carácter puramente fenomenológico, sin referir a la esencia de la acción de los genes. No obstante, se señalan los aspectos fundamentales de las diferencias entre los alelos. El espectro de variación desde los amorfos hasta los neomorfos, muestra toda la significación que puede tener el alelismo en la transformación de los organismos mediante la selección y durante la evolución.

Para profundizar las características fenomenológicas de las mutaciones de un gene en cuestión, es necesario analizar unos cuantos ejemplos concretos de las series alelomórficas.

ALELISMO PARA EL GENE *C* EN LOS CONEJOS. Desde hace mucho tiempo se conocía que el albinismo en el conejo (color blanco del pelaje y ojos rojos), es un carácter recesivo simple con respecto a la forma pigmentada. La segregación de los heterocigotos ($Aa \times Aa$) produce en la descendencia un 75% de conejos pigmentados y 25% de albinos.

Los conejos de Himalaya poseen ojos rojos y piel blanca, excepto la de todos los puntos extremos (las patas, la cola, las orejas y la punta de la nariz) donde tienen color negro o pardo oscuro. Al cruzar conejos normales con los de Himalaya ($C^{+}C^{+} \times c^{h}c^{h}$) se obtienen híbridos $C^{+}c^{h}$; el cruzamiento de estos últimos entre sí ($C^{+}c^{h} \times C^{+}c^{h}$) produce una descendencia de 75% de pigmentados y 25% de Himalaya. De esta forma, el albinismo completo y el Himalaya son caracteres alelomorfos respecto a la forma normal, de que se desprende que son alelos también entre sí. Esta conclusión se confirma experimentalmente. El cruzamiento entre albinos y los de Himalaya produce híbridos ($c^{h}c^{a}$) que revelan los caracteres de la forma Himalaya. De esta manera, el alelo c^{h} siendo recesivo con relación a la forma normal, resulta dominante sobre el albinismo total (fig. 78).

La serie de alelos para el color en el conejo consta de varios alelos, con la particularidad de que junto a la dominancia de unos alelos sobre otros en unos casos los heterocigotos poseen

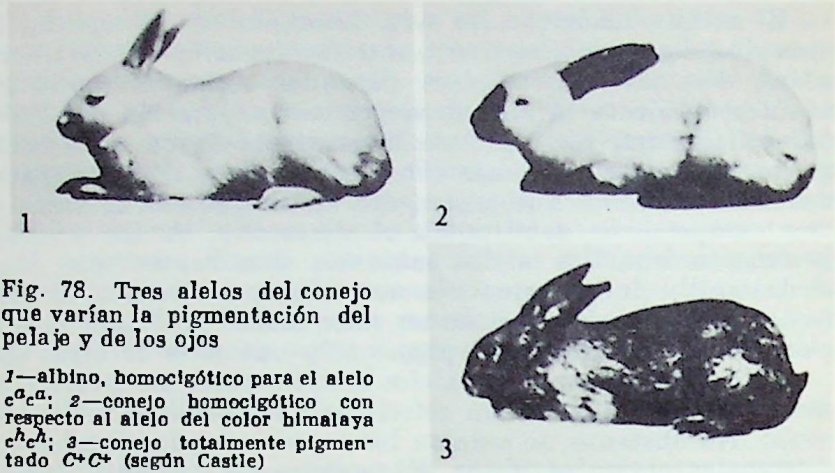


Fig. 78. Tres alelos del conejo que varían la pigmentación del pelaje y de los ojos

1—albino, homocigótico para el alelo $c^a c^a$; *2*—conejo homocigótico con respecto al alelo del color himalaya $c^h c^h$; *3*—conejo totalmente pigmentado C^+C^+ (según Castle)

un carácter intermedio. Los heterocigotos que contienen alelos diferentes reciben el nombre de *compound* (compuesto). Así, en la serie indicada, además del gene color salvaje del conejo (C), existe el alelo para el color del conejo chinchilla (c^{ch}). Cuando chincilla se cruza con albino ($c^{ch}c^{ch} \times c^a c^a$) toda la primera generación será intermedia de chinchillas claras ($c^{ch}c^a$). El cruzamiento de estos tipos de animales entre sí produce: 1 chinchilla ($c^{ah}c^{ch}$), 2 chinchillas claras ($c^{ch}c^a$) y un albino ($c^a c^a$).

La serie de cuatro alelos produce toda una serie de genotipos y fenotipos:

Genotipos	Fenotipos
CC, Cc^{ch}, Cc^h, Cc^a	Tipo salvaje
$c^{ch}c^{ch}$	Chinchilla
$c^{ch}c^a$	Chinchilla clara
$c^h c^h$, $c^h c^a$	Himalaya
$c^a c^a$	Albino

Se conocen series similares de alelos del gene fundamental para el color, C para muchos mamíferos: ratones, ratas, cobayos, gatos y otros. En los gatos entre los alelos de este gene se encuentra el color de los gatos siameses, que es tan apreciado por los amantes de los gatos. La mutación del albinismo ($C \rightarrow c^a$) es conocida en todos los mamíferos.

ALELOS DE LA AUTOESTERILIDAD Y LA INCOMPATIBILIDAD EN LAS PLANTAS (ALELOS DEL GENE *S*). Como es conocido, la mayoría de las plantas superiores y muchos animales inferiores son hermafroditas. Estas plantas producen óvulos y espermatozoides que funcionan

completamente normal. En muchos hermafroditas la autofecundación transcurre normalmente, mientras que en otros se elaboraron mecanismos genéticos especiales, que impiden la autofecundación, ya que provocan la incompatibilidad. Así, por ejemplo, en los tabacos (*Nicotiana*) estas propiedades dependen de una gran serie de alelos del gene S, designados por S^1, S^2, S^3, S^4 . . . S^n. Algunas plantas pueden poseer solamente una pareja de alelos S^1S^2, S^2S^3, S^1S^3, etc. Fue detectado, que si el grano de polen es portador del mismo alelo, que posee el pistilo, entonces el polen no crece o lo hace con mucha lentitud. Queda claro, que en estas condiciones la autopolinización es imposible, ya que el grano de polen y el estigma pertenecen a una misma planta y portan los mismos alelos. El cruzamiento de plantas con alelos idénticos tampoco da resultados. Si los alelos del grano de polen y del pistilo son homólogos, esto conlleva a la incompatibilidad de las plantas al cruzarse.

Si se cruzaran plantas que no contienen alelos homólogos, por ejemplo, $S^1S^2 \times S^3S^4$, entonces los granos de polen crecerán rápidamente desarrollando tubos polínicos normales. La compatibilidad e incompatibilidad de los alelos en los procesos de fecundación se manifiestan con particular evidencia en aquellos casos, cuando las plantas poseen un alelo homólogo, por ejemplo en el caso del cruzamiento $S^1S^2 \times S^2S^3$, en el que la mitad de los granos de polen S^2 no puede crecer en los pistilos S^2S^3, y la otra mitad S^1 crece normalmente en el mismo. La tabla 5 muestra

Tabla 5

Descendencia obtenida de los representantes de tres clases genotípicas de plantas de tabaco, que se diferencian por los alelos de autoesterilidad

Genotipo haploide de los óvulos	Genotipo diploide de la planta materna del pistilo	Genotipo diploide de la planta paterna					
		S^1S^3		S^1S^2		S^2S^3	
		Genotipo haploide de los granos de polen					
		S^1	S^3	S^1	S^2	S^2	S^3
S^1; S^3	S^1S^3	—*		—	S^1S^2 S^2S^3	S^1S^2 S^2S^3	S^1S^3
S^1; S^2	S^1S^2	—	S^1S^2;S^2S^3	—	—	—	S^2S^3
S^2; S^3	S^2S^3	S^1S^2 S^1S^3		S^1S^2 S^1S^3	— —	— —	— —

* El guión significa ausencia de descendencia

la proporción de los genotipos del polen, óvulos y descendencia obtenida en los diferentes genotipos del estigma de la planta materna.

El cuadro de acción mutua entre los alelos S en los tabacos, en realidad es mucho más complejo, ahora se conocen 15 alelos de autoesterilidad en estas plantas.

Todo lo dicho demuestra parcialmente en que consisten los fundamentos genéticos de la autoesterilidad, incompatibilidad e interfertilidad. Es lógico, que en el cruzamiento libre, la autoesterilidad y la incompatibilidad se obsevaran con tanta menor frecuencia, cuanto más alelos del gene S existan dentro de la población. Así en la onagra (*Oenothera*), al analizar un material no muy amplio, se han hallado alrededor de 40 alelos S, en el trébol rojo se han descubierto más de 200 alelos S, en este caso en las poblaciones prácticamente todas las plantas son interfértiles.

En los frutales también se conocen alelos del gene S. La presencia de éstos explica el fracaso en la plantación de los jardines frutales, cuando algunas variedades de plantas son incompatibles, es decir, incapaces por completo de polinizar unas a las otras. Al mismo tiempo, debido a estos mismos alelos la autopolinización tampoco ocurre.

El sistema evolutivo de la autoesterilidad surgió para prevenir la autopolinización de plantas monoicas, estimulando el desarrollo amplio de la fecundación cruzada en las plantas. La autoesterilidad representa un sistema genético que es responsable de la polinización cruzada en las plantas, garantiza en las plantas monoicas el mismo resultado que se alcanza en los animales gracias a la combinación libre de las parejas en el cruzamiento. Debido a los alelos S, las especies de plantas hermafroditas resultan autoestériles y se ven obligadas a emplear la polinización cruzada. Según datos de I. Brewbaker y C. Emery, la incompatibilidad se ha establecido en 10 000 especies de angiospermas. Además, la acción de los alelos S se ha establecido en los gimnospermas, helechos y hongos. Este mismo sistema genético de alelos de la autoesterilidad se emplea en las especies hermafroditas de animales, lo que en particular se ha establecido en la ascidia (*Ciana inthenstiales*).

La utilización de los genes de la autoesterilidad en principio puede garantizar la obtención automática de los híbridos necesarios en las plantas. Lewis propuso un esquema de utilización de cuatro líneas homocigóticas para distintos alelos del gene S, para obtener híbridos interlineales simples y dobles en las especies autoestériles: de los progenitores $S^1S^1 \times S^2S^2$ y $S^3S^3 \times S^4S^4$ se obtiene sólo híbridos simples S^1S^2 y S^3S^4. El cruzamiento de éstos produce solamente híbridos interlineales dobles de cuatro tipos: S^1S^3, S^1S^4, S^2S^3, S^2S^4.

Los primeros pasos en el empleo de estos tipos de sistemas genéticos fueron dados en los trabajos sobre la hibridación de las coles, trigo sarraceno, nabo forrajero y nabos.

ALELISMO EN LA DETERMINACIÓN DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS HUMANOS. Los alelos que conducen a la manifestación de varios grupos san-

guíneos característicos del ser humano están ligados a las particularidades de los antígenos de los glóbulos rojos (eritrocitos), que condicionan la aparición de los anticuerpos específicos en el suero sanguíneo. La existencia de dichos grupos fue establecida por Landsteiner, quien descubrió que en casos determinados al introducir los eritrocitos de una persona al suero de otra, se observa la aglutinación de los mismos. En las transfusiones de sangre, este fenómeno puede conducir a la muerte. Se determinó la existencia de dos antígenos A y B en los eritrocitos y en el suero, dos anticuerpos que aglutinaban a los primeros. La población humana resultó dividida en cuatro grupos según las propiedades de la sangre: grupo A (presencia del antígeno A y el anticuerpo B), grupo B (existencia del antígeno B y el anticuerpo A), grupo AB (ambos antígenos, ausencia de anticuerpos) y el grupo 0 (ausencia de ambos antígenos y presencia de anticuerpos A y B).

La fig. 79 muestra la reacción de todos los cuatro grupos sanguíneos, al introducirles suero con anticuerpo B (o sea, el de personas con grupo sanguíneo A) y al inyectarles suero con anticuerpo A (el de personas con grupo sanguíneo B). Observemos, que los eritrocitos del grupo sanguíneo AB se aglutinan en ambos casos. Los glóbulos rojos del grupo A se pegan solamente con el suero sanguíneo del grupo B y los del grupo B lo hacen únicamente con el del A. Por último, los eritrocitos del grupo 0 no se aglutinan en ningún caso.

Un análisis detallado del proceso hereditario de los grupos sanguíneos en el ser humano mostró, que estos cuatro grupos están condicionados por la transmisión de tres alelos (I^A, I^B, i). El grupo AB siempre es heterocigótico y posee el genotipo I^AI^B. El grupo A cuenta con los homocigotos I^AI^A y con los heterocigotos I^Ai. En el grupo B los genotipos pueden ser I^BI^B y I^Bi y finalmente el grupo 0 siempre será homocigótico para el alelo recesivo, ii.

En la actualidad se han descubierto una gran cantidad de nuevos grupos sanguíneos, investigándose exitosamente la genética de los mismos. Se estableció que los eritrocitos de algunas personas son aglutinados por el suero de conejo inmunizado con sangre de los monos rhesus (*Macacus rhesus*). El antígeno de los eritrocitos que provoca la aglutinación fue denominado «factor rhesus» (*Rh*). La sangre de los individuos que poseen este antígeno se llama *Rh* positiva, y estas personas pueden ser homocigotos para el factor (*RhRh*) o heterocigotos (*Rhrh*). Los hombres con sangre *Rh* negativa son homocigotos para el carácter recesivo (*rhrh*). Se estableció, que la transmisión del factor rhesus puede determinar la aparición de una anemia letal en los fetos o recién nacidos, la llamada eritroblastosis fetal. Este feto posee la sangre *Rh* positiva, pero su madre, la *Rh* negativa. El embrión recibe del padre su factor *Rh*. Este antígeno rhesus del feto provoca

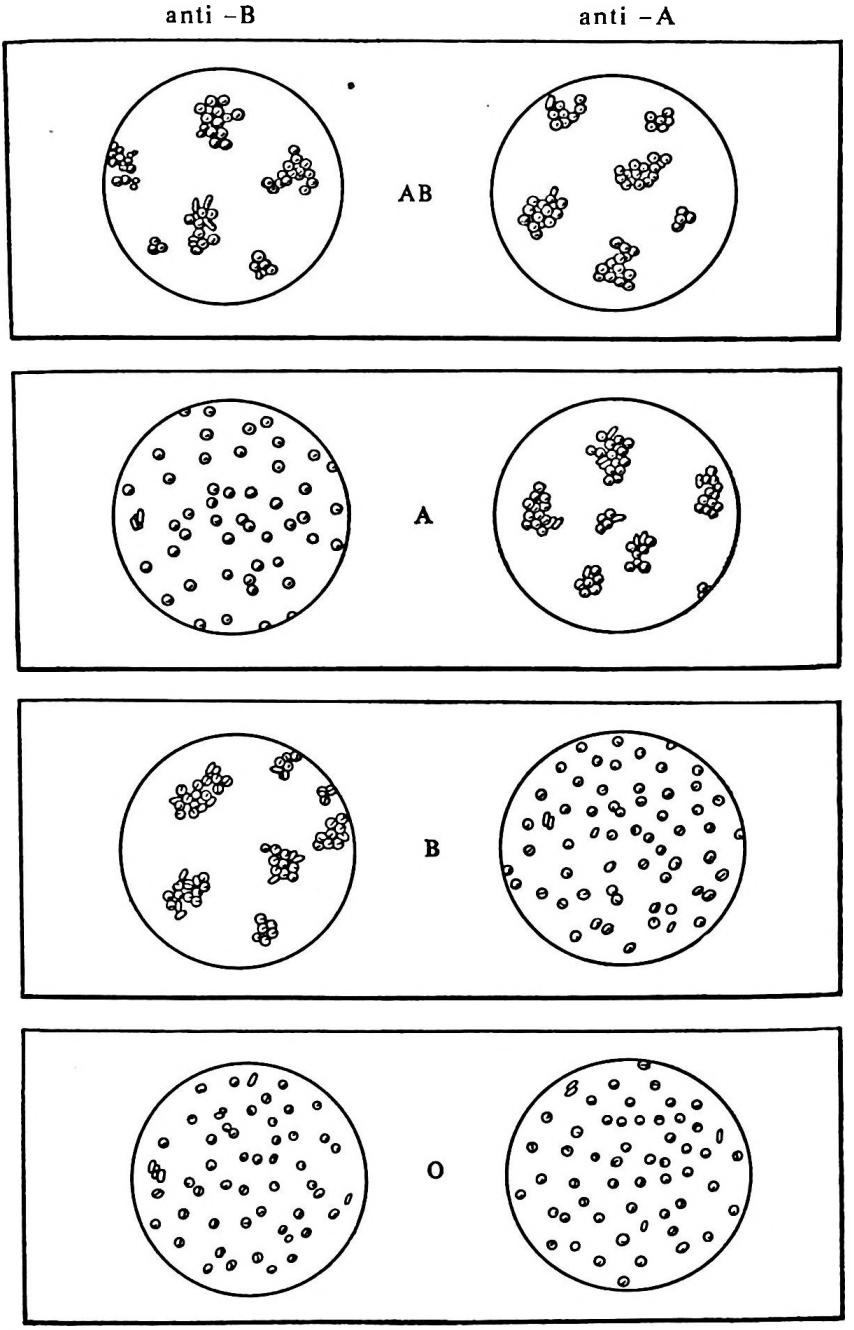


Fig. 79. Interrelación entre los antígenos de los cuatro grupos sanguíneos AB, A, B, 0 y los sueros que contienen, en un caso, el anticuerpo B (grupo sanguíneo A) y, en otro, el anticuerpo A (grupo sanguíneo B)

Aglutinación de los eritrocitos o su ausencia

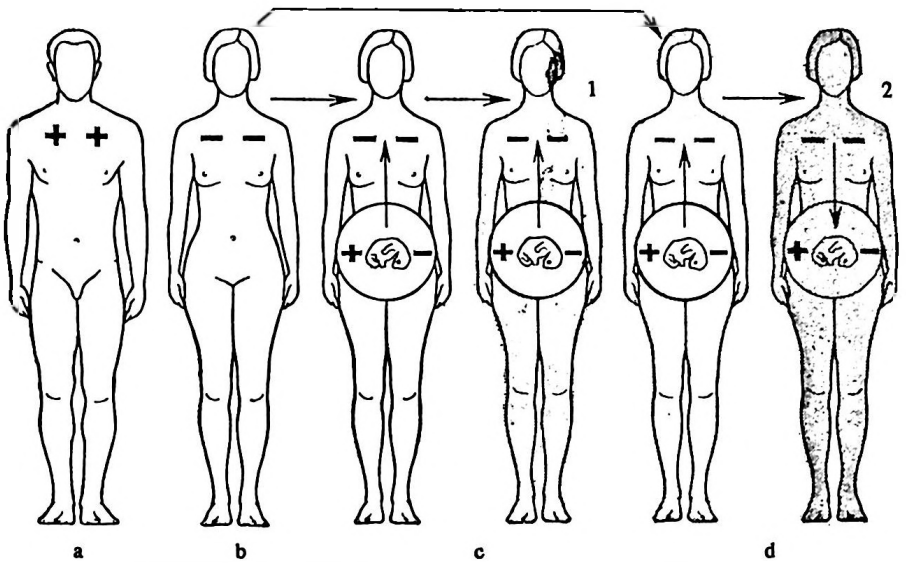


Fig. 80. Herencia del factor Rh en el ser humano y enfermedad de la sangre en los recién nacidos

a—padre, portador del gene *Rh*+; *b*—madre Rh negativa (*rh*); *c*—primer embarazo, el antígeno *Rh*+ penetra en la circulación de la sangre materna provocando la formación de los anticuerpos Rh (líneas transversales), pero como éstos son insuficientes, el niño nace normal (*1*); *d*—segundo embarazo, la madre está ya inmunizada por el feto *Rh*+, los anticuerpos pasan de la madre a la circulación sanguínea del feto, reaccionando con eritrocitos, se produce la eritroblastosis y el feto muere (*2*)

en una serie de casos la aparición de los anticuerpos rhesus en la sangre de la madre. Cuando estos anticuerpos acumulan en ella una cantidad suficiente, comienzan a introducirse en el feto y destruyen sus eritrocitos (fig. 80).

Se ha demostrado que en diferentes poblaciones humanas existen distintas proporciones de los diferentes alelos rhesus. En los casos descritos, el análisis del árbol genealógico tiene gran importancia médica.

ALELOS LETALES Y SEMILETALES. Los alelos que se originan en las mutaciones conciernen a variados aspectos de la vida. En muchos casos estos cambios alternan las estructuras celulares y los procesos regulares bioquímicos. Surgen alelos dominantes o recesivos, que poseen efecto letal o semiletal. Muchos alelos recesivos no son viables en estado homocigótico. Esto se refiere a muchas mutaciones clorofílicas en las plantas. Los mutantes blancos, o sea, albinos, perdieron la capacidad de sintetizar la clorofila y después que se agotan las sustancias reservadas en la semilla, éstos mueren.

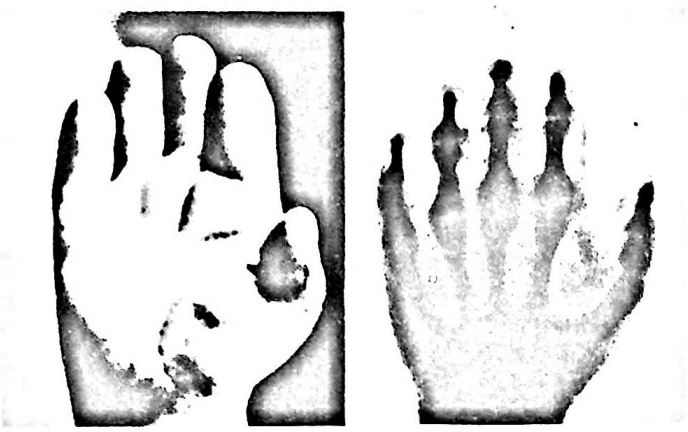


Fig. 81. Gene dominante con acción recesiva letal
La braquidactilia en estado heterocigótico provoca un acortamiento de los dedos de las manos como resultado de la fusión de la primera y segunda falange: *a*—aspecto exterior de la mano; *b*—radiografía

Con frecuencia las mutaciones dominantes, al provocar en el heterocigoto determinados caracteres del organismo, a la vez poseen una acción recesiva letal; aunque los individuos portadores de éstos en estado homocigótico mueren. Esto se refiere a muchas mutaciones dominantes en *Drosophila*. En el ser humano la mutación dominante de la braquidactilia (fig. 81) aparece en forma de acortamiento de los dedos, mientras que en estado homocigótico, ésta conduce a la muerte en etapas precoces del desarrollo.

La genética de los ratones amarillos se ha estudiado en detalle. Resultó, que el alelo dominante A^Y provocaba el color amarillo del pelaje los heterocigotos ($A^Y a$) y en los homocigotos ($A^Y A^Y$) causaba la muerte en la etapa precoz del desarrollo embrionario. Los ratones amarillos siempre son heterocigóticos conteniendo los alelos A^Y y a, el cual durante la segregación en los homocigotos produce ratones comunes negros o color chocolate. El cruzamiento entre dos ratones amarillos trae, como resultado, la segregación representada en la fig. 82. La heterocigosis para los genes letales por lo general produce la alteración de la segregación monohíbrida por la fórmula de 3 : 1 desviándola según la fórmula de $2A : 1a$, ya que los homocigotos AA mueren.

Además de los alelos letales, son ampliamente conocidos otros que debilitan en distintos grados la viabilidad de los individuos. Los portadores de estos tipos de genes sobreviven durante cierto tiempo, sin embargo, los defectos hereditarios no tardan en manifestarse y éstos mueren en edad prematura. Existen todas

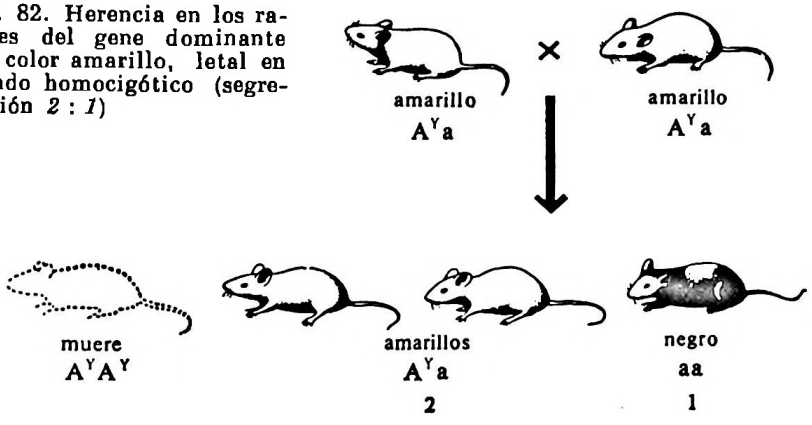


Fig. 82. Herencia en los ratones del gene dominante del color amarillo, letal en estado homocigótico (segregación *2 : 1*)

las transiciones desde los alelos letales hasta los normales. Las mutaciones que en una pequeña medida alteran la vitalidad, se denominan subvitales. La genética de los alelos letales, semiletales y subvitales ha sido bien estudiada en *Drosophila*.

EXPRESIVIDAD Y MANIFESTACIÓN DE LOS ALELOS MUTANTES EN DIFERENTES CONDICIONES DEL MEDIO AMBIENTE. EVOLUCIÓN DE LA DOMINANCIA. La manifestación y expresividad de las mutaciones que influyen sobre la viabilidad, dependen en gran medida de las condiciones del medio ambiente. Así, en condiciones óptimas el cruzamiento de las *Drosóphilas*, heterocigóticas para el alelo de las alas vestigiales produce una segregación normal: 3 normales y 1 vestigial. Sin embargo, en los cultivos superpoblados, en las condiciones de la lucha por la vida, el carácter de la segregación varía. La cantidad de individuos vestigiales resulta menor que lo esperado en un 25%. De esta manera, en condiciones de lucha por la existencia los homocigotos para el gene vestigial ceden ante los normales adquiriendo este gene un carácter de mutación subletal. El aumento de la subletalidad de esta mutación se encuentra en relación directa con el grado de superpoblación del cultivo:

Total de individuos en el cultivo	Moscas vestigiales, %	Desviación de lo esperado, %
<50	24,9	−0,1
de 50 a 100	25,2	+0,2
de 100 a 200	20,8	−4,2
>200	16,0	−9,0

Hemos observado que en los cultivos superpoblados (más de 200 moscas en el tubo de ensayo) alrededor de un 40% de los

individuos homocigóticos para el gene vestigial no sobrevive. Al mismo tiempo, en los cultivos donde el número de individuos fluctúa hasta 100, su viabilidad es completamente normal.

Otro ejemplo de la influencia de las condiciones externas sobre la norma de reacción puede presentar la mutación de los ojos blancos en *Drosophila*. Las moscas con ojos claros ceden notablemente por su viabilidad ante los individuos salvajes de ojos rojos al desarrollarse en un régimen de temperatura ambiente. Sin embargo, en condiciones de alta temperatura, los mutantes de ojos blancos por el contrario adquieren una notable viabilidad, desplazando a los individuos salvajes de ojos rojos.

Es muy lógico, que la reacción de los nuevos alelos en la naturaleza, en diferentes condiciones ambientales, expuesta a la acción de distintos factores ecológicos y geográficos será muy variada. En algunos casos los mutantes pueden adquirir enseguida, de una u otra manera, un valor adaptativo. Así, por ejemplo, si una población de dafnias, que anteriormente habitaba en un depósito de agua común, se traslada a condiciones de aguas termales, indiscutiblemente los mutantes, capaces de variar la norma de regulación térmica, de inmediato se acogen por la selección. No obstante, por regla general, los alelos mutantes se caracterizan por poseer una baja viabilidad en los homocigotos, y en caso de dominancia también en los individuos heterocigóticos. Es importante para la selección, que la manifestación del alelo dependa de su interacción, con otros genes. Esto conduce a que se crea de un medio genotípico que altera la manifestación y la expresividad del gene. Las mutaciones, que anteriormente eran perjudiciales, paulatinamente mediante la selección de los genes modificadores, que amortiguan los aspectos mutacionales negativos se convierten en neutros y hasta beneficiosos en condiciones de un nuevo medio genotípico. Cuando surgen mutaciones de genes nuevas en un medio genotípico dado, éstas se manifiestan como neomorfas, a lo que se encuentra ligada la dominancia de las mismas. La aparición de dominantes, contra los cuales actúa la selección natural, es condicionada por los procesos evolutivos de la dominancia que transcurren en las poblaciones. La influencia de la elección del sistema de modificadores, neutraliza poco a poco la expresividad de los caracteres dominantes. Posteriormente desaparece la manifestación de estas mutaciones en los heterocigotos. El alelo mutante mediante las transformaciones históricas del medio genotípico se convierte en recesivo. Este fenómeno de la dominancia evolutiva lo fundamentó e investigó minuciosamente R. Fisher. Muchos genes poseen un marcado efecto pleiotrópico. Estos alelos pueden tener acción positiva para algunos caracteres y negativa para otros. V. E. Altshúler, E. Ya. Borisenko y A. N. Poliakov elaboraron la idea acerca de la transformación compleja de los alelos, en la cual la evolución por un lado transcurre en sentido del aumento de la manifestación y expresividad

de los aspectos positivos de la mutación, y por otro, nivelando sus efectos nocivos.

Todos estos fenómenos evolutivos crean una estructura genotípica de las especies y las poblaciones. En estos tipos de poblaciones, los alelos mutantes son fundamentalmente recesivos. Sin embargo, las propiedades adaptativas de los individuos, poblaciones y especies en general, se garantizan por la acción de los alelos adaptativos dominantes, que han atravezado el crisol de los cambios históricos de sus propiedades en los procesos evolutivos.

FENOMENOLOGÍA Y ESENCIA DE LA INTERACCIÓN ENTRE ALELOS. En 1923, en el libro «Fundamentos estructurales de la herencia» T. Morgan escribió: «El más importante de todos los datos acerca de la naturaleza de los genes es, al parecer, la observación de los alelomorfos múltiples». Sobre la base del análisis fenomenológico de la acción mutua entre alelos, fueron formuladas las teorías principales del gene como unidad hereditaria. El gene se tomaba como unidad de la función, mutaciones y recombinaciones.

Posteriormente a la fenomenología, en el problema del alelismo se inició la etapa de la interpretación bioquímica de la acción alelomórfica en la célula. En los trabajos sobre la Inmunogenética fueron hallados ejemplos brillantes de la acción primaria de los genes en la célula. Fue establecida con mucha exactitud la dependencia que existe entre la presencia de una serie de antígenos en la sangre y la acción de genes determinados. El estudio de la herencia de las diferencias inmunológicas de los organismos tiene una gran importancia. M. R. Irwin denominó esta nueva rama de la ciencia Inmunogenética.

Es conocido, que los anticuerpos aparecen en la sangre en respuesta a la introducción en el organismo de un antígeno extraño. Casi todas las proteínas actúan como antígenos, no obstante, también algunos polisacáridos, lípidos y otras sustancias poseen propiedades antigénicas. La reacción de los anticuerpos con el antígeno es muy específica, éstos (anticuerpos) fijan solamente aquellos antígenos que provocaron su formación. Para comparar los antígenos de dos organismos se introduce el suero sanguíneo o las células del primer organismo a uno ajeno de otra especie (por lo general, al conejo). Éste elabora anticuerpos específicos contra todos los antígenos introducidos. Posteriormente el suero del conejo inmunizado se investiga con respecto a los antígenos del segundo organismo. Si existen antígenos comunes, la reacción de los anticuerpos del conejo con los antígenos del segundo organismo conduciría al desarrollo de la reacción de precipitación o aglutinación de las células sanguíneas, eritrocitos. El análisis genético determinó que las propiedades de determinados antígenos dependen de la acción de un gene. Las diferencias inmunológicas son principales divergencias entre los organismos lo que

concierne a la estructura química de las células y tejidos. Las diferencias antigénicas existen en todos los animales y plantas, comenzando por las formas monocelulares primitivas y terminando en los organismos superiores. Muchos de los antígenos son específicos para una especie dada.

El rasgo de mayor importancia en las leyes de la herencia de muchas diferencias antigénicas, reside en que se observa en éstas una codominancia, en la cual no tiene validez la ley de la dominancia, ni de la acción intermedia, ni alguna otra entre los alelos. El híbrido manifiesta todos los antígenos que caracterizan a sus progenitores.

Para comprender la naturaleza de la acción de los genes, tuvo gran valor el estudio de la síntesis de enzimas específicas en la célula. Muchos ejemplos de este tipo fueron estudiados por Beadle y otros autores, al trabajar con mutantes bioquímicos del moho neurospora, en el cual se obtuvieron muchas líneas diferentes que poseían genes mutantes. Estas líneas se diferenciaban de las normales, prototróficas por ser incapaces de sintetizar determinados compuestos debido a que los mutantes se desarrollaban exclusivamente si se les suministraban este tipo de sustancia en el medio de cultivo. Una serie de líneas requería vitaminas: timina, ácido nicotínico, ácidos pantoténicos, etc. Esto mismo concierne a las necesidades de aminoácidos: triptofano, arginina, valina, leucina y otros. El estudio de la bioquímica y la genética de estos auxótrofos demostró, que los genes mutantes pierden las funciones normales dejando de elaborar enzimas determinadas en la célula, por lo cual la cadena de biosíntesis se interrumpe en el lugar correspondiente.

La esencia de la influencia de los genes sobre el desarrollo de determinados caracteres químicos, fue bien estudiada en el ejemplo de elaboración de la coloración en las flores. Las principales sustancias que determinan la coloración, son antocianinas, antoxantinas y carotenoides. La diversidad del colorido se encuentra condicionada por la presencia o la ausencia de cada uno de los pigmentos, se refleja en los cambios estructurales de las moléculas, en el grado de acidez del jugo celular, etc. Todos estos factores varían bajo la influencia de diferentes mutaciones. Las antocianinas producen una serie de matices desde el rojo (jugo ácido) hasta el azul (jugo alcalino), las antoxantinas dan lugar a diferentes tonos de amarillo marfil. El grado de oxidación del anillo fenólico que entra en la composición de ambos pigmentos, determina una serie de mutaciones. Con la presencia del grupo OH en las posiciones 3′, 4′ y 5′, aparece la delfinidina, que predomina tanto sobre el desarrollo de la pelargonidina como sobre la cianidina, que posee un grupo hidroxilo en 3′ y 4′. En este caso el pigmento más oxidado es dominante sobre el menos oxidado: delfinidina > cianidina > pelargonidina. En otros casos, las mutaciones provocan la sustitución de un grupo OH por un

H en la posición 3′ en la molécula de antocianidina, alteran el lugar del grupo metílico, etc. Para estas ocasiones se han establecido hechos que demuestran, que algunas mutaciones génicas determinan la presencia y disposición de los radicales elementales y de los átomos en las moléculas de los pigmentos. También en este caso, el carácter primario de la acción de los genes, al parecer, está ligado a las variaciones de las enzimas que regulan los diferentes etapas de biosíntesis de los pigmentos.

Un ejemplo claro de la acción directa de los genes fue expuesto por A. I. Mangelsdorf y G. Fraps, a raíz de estudiar la formación de la vitamina *A* en el maíz. El gene *Y* determina, en el maíz, el desarrollo del endosperma amarillo y de la vitamina *A*, y el alelo *y*, el desarrollo del endosperma blanco y del carotenoide en lugar de la vitamina *A*. Por cuanto el endosperma, tiene un número de cromosomas triploide, resulta posible con los cruzamientos correspondientes, obtener granos cuyos endospermas poseían diferentes proporciones de alelos *Y* e *y*. Se obtuvieron formas con endospermas de los genotipos *yyy*, *yyY*, *yYY* e *YYY*. Las semillas que poseían cada uno de los cuatro genotipos, fueron analizadas para determinar el contenido de vitamina *A*. La metodología estandarizada para la determinación del contenido de vitamina *A* mediante la alimentación de las ratas con granos, demostró que los genotipos indicados contienen ésta en las siguientes cantidades: 0,12, 0,25, 5,00 y 7,50 en correspondencia al aumento del número de alelos *Y* en la célula. El análisis bioquímico directo presentó el mismo cuadro. La dependencia entre la cantidad de vitamina *A* y la acción del gene *Y* es directa.

De esta manera, es evidente, que la mutación de los genes conduzca a la aparición en la célula de nuevos alelos con nuevos efectos primarios que varían las diversas reacciones bioquímicas. Quedó demostrado, que muchos de estos efectos se encuentran vinculados a los cambios de la calidad o el grado de actividad de las enzimas y sus complejos, o a la variación de otros sistemas macromoleculares en la célula.

Preguntas para discutir

7-1. ¿Cuántos alelos pertenecientes a un locus dado puede contener un organismo diploide?

7-2. ¿Por qué vía surgen diferentes alelos de un mismo gene?

7-3. ¿Qué es el alelismo múltiple?

7-4. ¿Que cantidad de mutaciones pueden componer una serie alelomórfica de genes diferentes? Caracterice la serie de alelos para los antígenos en los paramecios.

7-5. Exponga la clasificación de los principales tipos de alelos según su acción sobre el desarrollo. ¿Qué son los alelos neomorfos de los genes y cuáles son los isoalelos?

7-6. ¿Qué es la Inmunogenética y cuál es la significación de los datos que ésta nos ofrece, para comprender la acción primaria de los genes?

7-7. Describa el efecto primario de los genes en el caso de la formación de la vitamina *A* en el maíz.

7-8. ¿Cuáles dos funciones principales de los genes pueden considerarse primarias?

7-9. Describa el alelismo del gene fundamental del color *C* en el conejo.

7-10. ¿Qué relación tiene el estudio de los alelos con el fenómeno de la autoesterilidad y la incompatibilidad en las plantas?

7-11. ¿Por qué no debe hacerse una transfusión de sangre de un hombre del grupo sanguíneo 0, a otro con grupo AB?

7-12. ¿Cuál es el papel del factor dominante *Rh* (*Rh* positivo) en la muerte del feto, en el caso de un matrimonio en que el padre es *Rh* positivo y la madre, *Rh* negativa?

7-13. ¿Cuáles son las mutaciones letales, semiletales y subletales?

7-14. ¿Qué tipo de segregación surge al cruzar dos heterocigotos para la mutación dominante con acción recesiva letal? ¿En qué se diferencia ésta de la segregación monohíbrida común?

7-15. ¿Dependerá la expresividad y la manifestación de los alelos mutantes de las diferentes condiciones ambientales? ¿Cómo reaccionan los homocigotos para el gene de las alas vestigiales en la *Drosophila* ante los cultivos superpoblados y los homocigotos para el gene de los ojos blancos ante las variaciones de temperatura?

7-16. ¿Qué es un medio genotípico y cuál es el papel que éste desempeña en la evolución de la dominancia?

7-17. Al cruzar un cobayo negro con uno blanco, obtenemos una segregación de un 50% de blancos y un 50% de negros. El cruzamiento de un cobayo pardo con uno blanco produce un 50% de pardos y un 50% de blancos. ¿Qué podría decir sobre la base de los resultados de estos experimentos acerca de la interacción entre los genes que determinan estos tres caracteres?

7-18. Un conejo chinchilla se cruza con un conejo chinchilla claro. ¿Cuál será la descendencia? Indique los genotipos de los progenitores y de sus descendientes?

7-19. ¿Qué descendencia se originará en el tabaco, cuando el polen de un progenitor S^1S^3 poliniza a la planta femenina S^1S^2? ¿Qué sucederá en el caso de la polinización con el polen del progenitor S^2S^3 a una planta femenina S^1S^2?

7-20. ¿Cuál será el genotipo de los hijos, si contraen matrimonio un hombre poseedor del grupo sanguíneo AB, con una mujer de grupo 0?

7-21. En un matrimonio entre un hombre y una mujer homocigótica para el factor *Rh* negativo, los hijos resultaron afectados de eritroblastosis. Escriba el genotipo del padre.

7-22. Un ratón amarillo se cruza con uno negro. De la generación F_1, los amarillos se cruzan entre sí. ¿Cuál será la segregación en F_1 y F_2? Escriba los genotipos de todos los progenitores y descendientes.

VIII Herencia y ambiente. Poblaciones y líneas puras. Estudios del material inicial de la evolución y la selección

El fenómeno de la herencia se encuentra ligado a la particularidad de las moléculas del DNA, que a través de los procesos del desarrollo individual determinan la constitución del individuo. Sin embargo, la materialización de la información hereditaria, que comienza al madurar las células sexuales y desde la primera división del óvulo fecundado, ocurre en determinadas condiciones ambientales. Es evidente que las diferencias de las condiciones ambientales imponen su influencia sobre las particularidades del desarrollo individual. Todo esto nos obliga a analizar este proceso como una consecuencia de la acción de dos factores importantísimos: la realización del programa genético, o sea, la acción del genotipo y la influencia por parte de los factores ambientales.

Es obvio que la herencia se encuentre ligada a la transmisión de las particularidades genotípicas de los progenitores a la descendencia a través de una serie de generaciones, y que por eso, todos los nuevos alelos que surjan mediante mutaciones se heredan rigurosamente. Es otra cuestión las alteraciones fenotípicas provocadas por la acción del medio ambiente, que sin variar la estructura génica permiten la aparición de caracteres adquiridos por medio de la alteración de unos u otros aspectos dentro de los procesos del desarrollo individual. Este tipo de variaciones obtuvieron el nombre de modificaciones y no son hereditarios.

GENOTIPO Y FENOTIPO. MUTACIONES Y MODIFICACIONES. El material genético sufre diversos cambios bajo la acción de factores del medio interno y externo. La composición molecular del gene y tras ésta su bioquímica, la estructura y el número de los cromosomas, todo esto se encuentra sometido a cambio. Todas las alteraciones en las estructuras génicas y cromosómicas son mutaciones que se

autorreproducen durante la división de las células y, por lo tanto, se heredan.

De esta forma, las mutaciones vienen a ser cambios moleculares o estructurales de la información genética, provocados a través de la interacción entre el genotipo y el medio ambiente. Las modificaciones surgen como resultado de la acción mutua entre el medio y los procesos de desarrollo, o sea, la realización de la información genética en el desarrollo individual. No cabe duda de que los cambios genéticos son importantes en primer lugar desde el punto de vista de los problemas de la evolución y la selección. Considerar las modificaciones se requiere para comprender cómo concretamente éstas influyen sobre las formas de selección. El conocimiento de la reacción que pueda tener un individuo de una constitución genotípica dada ante la acción del medio ambiente en los procesos de su desarrollo, es de excepcional importancia para la Agricultura, la Medicina, y los problemas de educación. Para cada genotipo esta reacción está suficientemente determinada, por lo cual se ha introducido el concepto sobre la norma de reacción. El problema de la valoración de la interrelación entre el medio y el genotipo es muy complejo y requiere un análisis especial en cada caso.

El estudio sobre la norma de reacción tiene en cuenta que a pesar de que la expresión del genotipo depende de las condiciones ambientales, ésta ocurre solamente en los límites determinados por las posibilidades del genotipo dado. La acción de los genes siempre está ligada a las condiciones intracelulares y a las del medio ambiente. Sin embargo, las variaciones de esta acción no pueden salirse de los límites accesibles para un gene determinado y el genotipo en general.

En 1911 Johannsen introdujo en la Genética los términos de genotipo y fenotipo. El genotipo es un complejo de genes que recibe el organismo por parte de sus progenitores. Mediante las mutaciones el genotipo adquiere nuevos genes mutantes que sus progenitores no poseían. El fenotipo representa la suma total de caracteres internos y externos del organismo, que son la forma, tamaño, color, composición química, comportamiento, y particularidades bioquímicas, microscópicas y macroscópicas.

Gracias a la abundancia de variedades genéticas y aparición de múltiples desviaciones en los procesos del desarrollo provocados por la acción del medio ambiente, cualquier especie de organismos vivientes está representado por una inmensa diversidad de los individuos que la componen.

INTERRELACIÓN ENTRE EL AMBIENTE Y LA HERENCIA. Existe una serie de posibilidades por las cuales pueden obtenerse individuos idénticos genotípicamente. Así, mediante la reproducción vegetativa de una misma planta se obtienen clones idénticos. En este caso todos los indi-

viduos dentro del clon tendrán un mismo genotipo. Este material clónico fue ampliamente utilizado experimentalmente mediante su siembra en diferentes condiciones ecológicas. En estos experimentos se detectó una gran flexibilidad ecológica, o sea, el desarrollo de modificaciones en respuesta a la acción de diferentes condiciones ambientales (fig. 83). Sin embargo, si todas las plantas después de ser cultivadas en condiciones alpinas las devolviesen al medio inicial y precisamente a condiciones de valles, todas las propiedades modificadas desaparecen y no se manifiestan en las generaciones posteriores.

El estudio de individuos completamente idénticos en el hombre y los animales, causa profundo interés. Este fenómeno se observa al nacer gemelos idénticos (monovitelinos). Entre los mellizos se encuentran con más frecuencia los denominados bivitelinos o gemelos fraternos. Estos se originan a raíz de la fecundación de dos óvulos diferentes por dos espermatozoides distintos. Estos gemelos no se diferencian de los hermanos nacidos con diferencia de tiempo (fig. 84). En este caso, al nacer una pareja de gemelos, pueden ser de igual sexo u opuesto, o sea, pueden nacer un varón y una niña, dos varones o finalmente, dos niñas. El nacimiento de gemelos monovitelinos se acompaña de la división de un óvulo fecundado en dos blastómeros, que al separarse uno del otro, dan inicio a dos embriones independientes. Es obvio por tanto, que en estos gemelos existe una identidad absoluta de sus genotipos. Una pareja de gemelos monovitelinos no puede estar constituida por una niña y un varón, pertenecen a un mismo sexo, es decir, nacen dos varones o dos mujeres.

Las investigaciones sobre los gemelos idénticos han aportado mucho a la Genética humana, permitiendo estudiar cuestiones acerca de la correlación entre el ambiente y el genotipo en el desarrollo individual. La tarea del investigador en este problema consiste en determinar el grado de semejanza (concordancia) o la desemejanza (discordancia) en las parejas de mellizos. En este aspecto, se ha demostrado que los gemelos monovitelinos poseen un alto grado de concordancia en comparación con la gran discordancia que la presentan los gemelos bivitelinos.

Las investigaciones sobre los gemelos monovitelinos humanos demostraron que es inmenso el papel de la información genética en el desarrollo individual. Los gemelos sorprenden por su parecido físico y sicológico. Muchos hechos acerca del comportamiento de una pareja de gemelos en distintas condiciones desde la más temprana edad inequivocamente muestra el rol que desempeña la información genética. Claro que las diferencias en la educación dejan su huella en las particularidades mentales de los gemelos, pero lo fundamental sigue siendo la similitud. Las diferencias dependen, en distinta medida, de la influencia de las condiciones ambientales. En el ser humano el sexo, o sea, la probabilidad del nacimiento del varón o la niña, el color de los ojos y otros caracte-

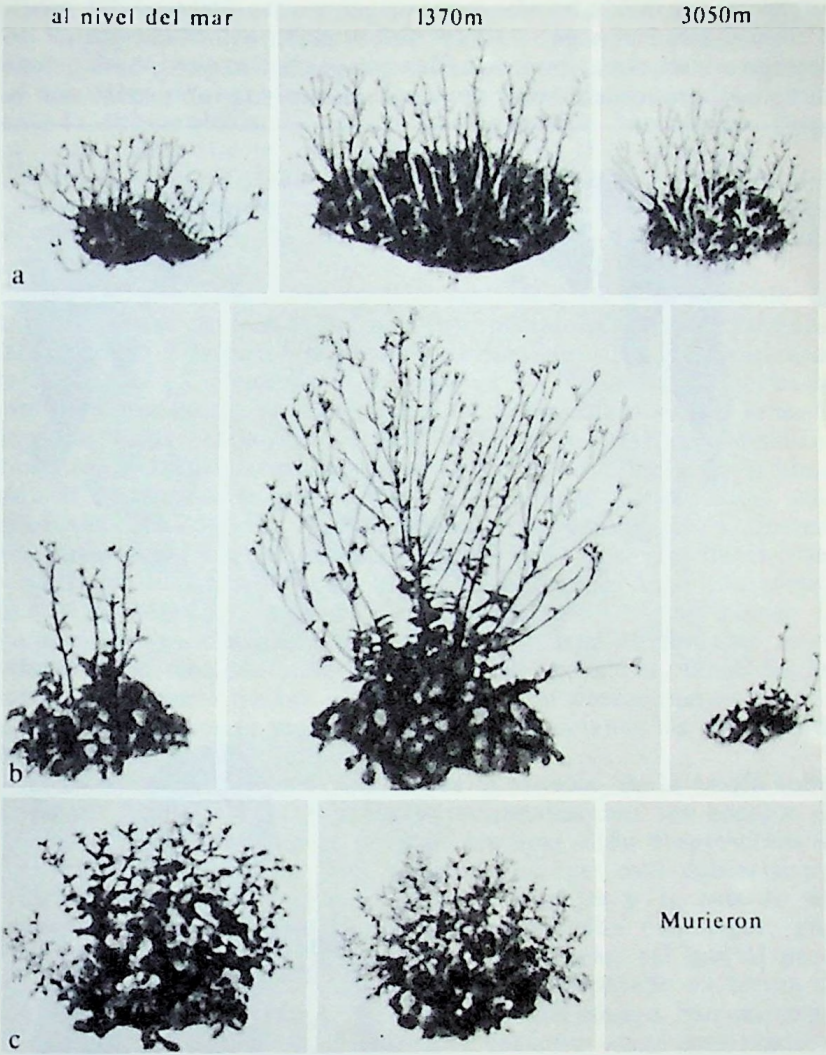


Fig. 83. Razas de la planta *Potentilla glandulosa*

a—raza alpina a una altitud de 3050 m; *b*—raza a una altitud de 1370 m; c—raza costera a una altura de 180 m al nivel del mar (según Clausen, Keck y Hiesey)

res los determina infaliblemente el genotipo. Por otro lado, la aparición de una enfermedad infecciosa, del tostado por el sol y otras particularidades tienen su origen en los factores del medio ambiente. Sin embargo, no hay que menospreciar el papel del genotipo ni siquiera para aquellas propiedades que puedan aparentar ser provocadas por acciones puramente externas. Se ha

Fig. 84. Gemelos humanos

A—gemelos monovitelinos;
B—gemelos dicigóticos, no idénticos, niña y varón (el hijo es albino, y la hija está pigmentada) (según Sinnott Dunn y Dobzhansky)

demostrado que también en este caso la intensidad del efecto de los factores del medio ambiente está condicionada por el grado en que el individuo sea propenso genotípicamente a percebirlos. En la aparición de tales enfermedades como la apendicitis, el sarampión y el raquitismo, el papel del genotipo es muy evidente. La constitución hereditaria tiene un valor determinado al contraer la tuberculosis. El grado de propensión hereditaria juega un papel importante en cualquier enfermedad humana.

En todos estos casos en primer plano intervienen las leyes de la norma de reacción, ya que no se heredan los caracteres, sino los tipos específicos de reacciones en respuesta a diferentes condiciones.

Un ejemplo clásico de reacción diferencial ante el cambio de las condiciones ambientales, es el comportamiento de la prímula, cultivada en diferentes regímenes de temperatura. Si las plantas de la variedad *Primula sinensis*, que en condiciones normales poseían flores rojas, se trasladan a un invernadero donde se mantienen a una temperatura de 30—35° C con elevada humedad, entonces, al transcurrir algún tiempo sus nuevas flores serán blancas. Si estas mismas plantas volver en condiciones de bajas temperaturas (15—20° C), pues, nuevamente comenzarán a florecer con flores rojas. Evidentemente, que el carácter de las flores rojas ni el de las blancas no se heredan por sí mismos. Aquí es evidente lo que se hereda es el tipo de reacción ante las condiciones de temperatura y humedad. El desarrollo en medios distintos no se refleja en la descendencia. Las semillas recogidas, tanto de las flores rojas como de las blancas, producen descendientes que no se diferencian por la capacidad de reaccionar ante los cambios de temperatura en los habitats.

Otro ejemplo clásico, que ilustra la esencia de la teoría sobre la norma de reacción, son los experimentos con los conejos de Himalaya. En esta raza de conejos, los ojos están desprovistos de pigmento y por eso parecen rojos, el cuerpo está cubierto por pelos blancos y solamente las patas, las orejas y la cola se ven pigmentadas. Estas particularidades se heredan con rigor, produciendo segregaciones mendelianas al cruzarse, así que al parecer, presenciamos el carácter hereditario presentado en forma de distribución de los pigmentos en el cuerpo del conejo. Sin embargo, resultó que la manifestación de este carácter exige una rigurosa correlación entre el genotipo y determinadas condiciones del medio ambiente. Según el genotipo de estos conejos el pigmento en la célula comienza a elaborarse solamente a bajas temperaturas. Por esto, todas las partes del cuerpo del conejo donde la circulación de sangre es menor, son capaces de desarrollar el pigmento negro. Si arrancamos los pelos de un área del pelaje blanco del conejo y se les dejamos crecer en condiciones de frío, entonces éstos saldrán negros en vez de ser blancos (fig. 85). Si arrancamos los pelos de las zonas pigmentadas del conejo y se les volvemos

a dejar que crezcan en condiciones de temperatura elevada, entonces los pelos nuevos tendrán color blanco. Hemos visto, de este modo, que no se hereda el dibujo en sí del conejo de Himalaya, sino la capacidad de desarrollar el pigmento en los pelos o quedarse sin éste en dependencia de las condiciones térmicas.

En algunos casos se presenta un mecanismo poco común en la determinación del sexo, cuando la aparición del sexo femenino

Fig. 85. Norma de reacción en el conejo de Himalaya

La mancha negra en el lomo surgió después de arrancárselos en este lugar los pelos y dejarlos criar en condiciones de temperatura baja (según L. Kaufman)

o masculino no se condiciona de acuerdo con las diferencias hereditarias, sino que surge bajo la acción de las condiciones ambientales. Un ejemplo clásico es el equiúrido marino *Bonellia viridis*. Los machos de este gusano poseen un tamaño milimétrico y viven en el útero de la hembra donde fecundan sus óvulos. El macho es un parásito típico, que vive dentro del cuerpo de la hembra cuyas dimensiones son comparables a las de una ciruela (fig. 86). Las larvas que se desarrollan después de los huevos, llevan durante algún tiempo vida libre y luego se fijan a la proboscis de una hembra sexualmente madura o se instalan en el fondo del mar. Estos dos tipos de larvas no se diferencian entre sí en ningún sentido, y a donde irá a parar es cuestión de la casualidad. Sin embargo, en qué se convertirá la larva, o sea, si será hembra o macho, se determina por las condiciones de vida en el período cuando está fijada. Las larvas que se instalan en la proboscis de la hembra se desarrollan en machos penetrando en los órganos sexuales femeninos y viviendo allí como parásitos, mientras las que se instalan en el fondo del mar se convierten en hembras.

En este ejemplo pudimos observar que las condiciones del medio externo determinan la aparición de individuos de sexos opuestos, con la particularidad de que es evidente el carácter adaptativo de la reacción ante la influencia de los factores del medio ambiente. La transformación de las larvas, que se fijan

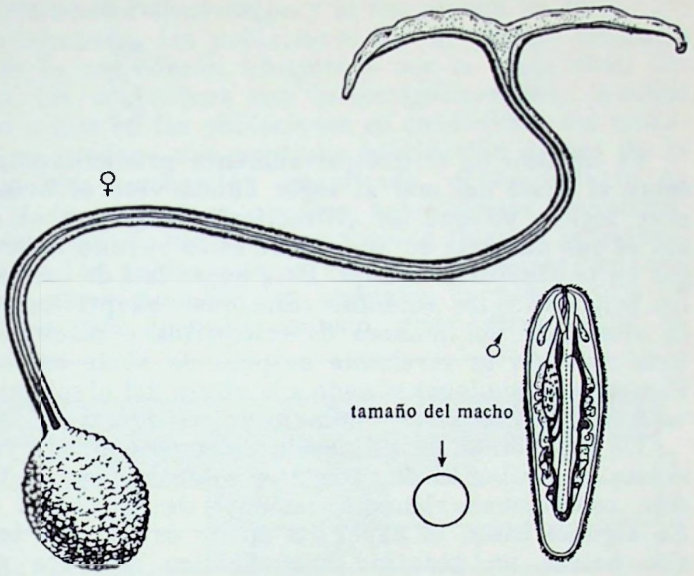


Fig. 86. Diferencia sexual entre el macho y la hembra del equiúrido marino (*Bonellia viridis*)

En el círculo se halla un macho en su tamaño natural

a la proboscis de la hembra, en machos, es absolutamente racional, ya que solamente estas larvas se encuentran en condiciones de llegar a los órganos sexuales de la hembra.

La capacidad de los organismos de reaccionar ante los factores del medio ambiente, por regla general, tiene un carácter adaptativo y esto representa el aspecto más importante de toda la teoría de la norma de reacción. La facultad de resistir a las fluctuaciones de las condiciones ambientales mediante la reacción adaptativa de los organismos vivientes, recibió el nombre de homeostásis fisiológica. En el ser humano se elabora una cantidad distinta de eritrocitos al vivir a diferentes alturas. El número de eritrocitos por un metro cúbico de sangre en las personas que viven al nivel del mar, es dos veces menor que en los habitantes de grandes altitudes en las montañas:

Altitud sobre el nivel del mar, m	Cantidad de eritrocitos (en millones) por 1 mm³ de sangre
0	4,2
1300	5,2
2400	6,0
3100	6,6

Altitud sobre el nivel del mar, m	Cantidad de eritrocitos (en millones) por 1 mm³ de sangre
3700	6,8
4100	7,5
4880	7,8
5600	8,3

El número de eritrocitos aumenta gradualmente al elevarse sobre el nivel del mar el lugar donde vive el hombre. Esto es muy lógico, ya que los eritrocitos transportan el oxígeno, por eso es que aumenta su número de éstos cuando la presión de este gas en la atmósfera es baja. Esta necesidad de oxígeno, hace que las personas y los animales reaccionen adaptivamente mediante la alteración del número de eritrocitos a diferentes altitudes. Esta reacción es reversible después de vivir en las montañas. El traslado a un lugar situado a la altura del nivel del mar, conlleva a la disminución del número de eritrocitos en la sangre.

De esta forma, la influencia del medio puede variar bruscamente la revelación de caracteres sobre la base de la manifestación condicionada hereditariamente de la norma de reacción. En algunos casos, el papel del medio es tal, que los individuos que poseen un genotipo homocigótico mutante no presentan ningún carácter que los diferencie de la norma. En algunos casos el medio ambiente influye de tal manera que los mutantes homocigóticos no presentan caracteres diferentes de la norma. Así en la *Drosophila*, los individuos homocigóticos para la mutación que altera la forma del abdomen pueden no expresar cambio alguno en condiciones húmedas.

En esta ocasión nos encontramos ante una manifestación incompleta de las particularidades hereditarias. Cuando el carácter posee una característica cuantitativa variada en dependencia de las condiciones del medio ambiente, se trata de una expresión de la mutación.

Todo lo antes expuesto demuestra la existencia de profundas diferencias entre carácter y gene. Los caracteres como tales no se heredan, sino se desarrollan sobre la base de la interacción entre el genotipo y el medio ambiente. Se hereda solamente el genotipo, o sea, el conjunto de genes que determina la norma de reacción del organismo, la cual altera la manifestación y la expresividad de los caracteres en las distintas condiciones del medio ambiente.

ESTUDIO DE LAS POBLACIONES Y LÍNEAS PURAS. La cuestión acerca de la interrelación entre genotipo y medio ambiente al analizar la naturaleza de la variabilidad en las variedades, razas y líneas, siguió siendo un escollo obstáculo en el estudio de la herencia y la teoría de la selección. No obstante, a principios del presente siglo las investigaciones de W. Johannsen sobre la genética de las líneas puras y poblaciones en las plantas, proporcionaron los resultados inicia-

les principales, que asentaron las bases del estudio moderno acerca de la correlación entre el genotipo y el fenotipo.

Fundamentalmente, las poblaciones son grupos de animales o plantas que se reproducen libremente por la vía sexual. En la naturaleza los individuos son heterocigóticos para muchos genes, debido a que en las poblaciones en condiciones del cruzamiento libre se produce una continua hibridación dentro de la población con una segregación complicada, el surgimiento de homocigotos y de individuos que son heterocigotos complejos. La heterocigosis multiforme y la complejidad total de la naturaleza genética de las poblaciones se detectan claramente cuando en condiciones experimentales los vegetales de poblaciones de plantas cruzadas, por ejemplo, centeno, maíz, girasol, etc. en

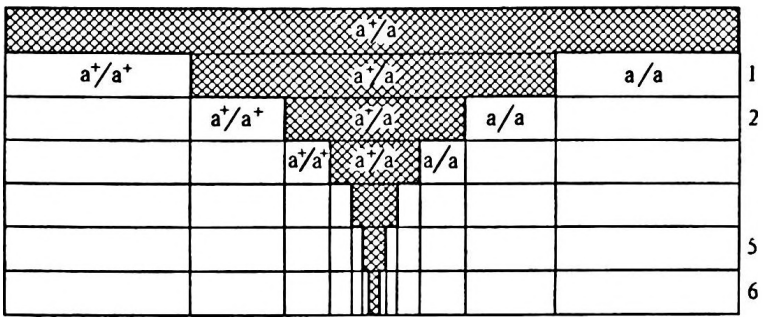


Fig. 87. Análisis teórico de las consecuencias de la autopolinización realizado por G. Mendel

1—6, generaciones. A consecuencia del inbriding la población de autopolinizadores en general se divide en dos grupos de individuos homocigóticos

una serie de generaciones se someten a la autopolinización forzada. Como resultado de la autofecundación, lo que en su época fue demostrado teóricamente por G. Mendel, surgen líneas puras, o sea, homocigóticas. Los genes que se encontraban en estado heterocigótico en la población inicial, pasan al homocigótico, conjugándose de distinta manera en diferentes líneas puras. Se revela un contenido hereditario variado en las poblaciones de fecundación cruzada. Lo mismo se obtiene con el inbriding (reproducción dentro de la misma raza), o sea, en la reproducción consanguínea de animales. Esto fue demostrado en los amplios trabajos de S. Wright con poblaciones de cobayos. También se ha demostrado en los ratones, cerdos, gallinas, y en otros animales, en el caso de la reproducción forzada consanguínea en una serie de generaciones.

En la fig. 87 se muestran los resultados del análisis teórico efectuado por Mendel. Apreciamos que ya en la primera genera-

ción en inbriding de un grado extremo, es decir, la autopolonización la población se divide en tres grupos de individuos: 25% de AA + 50% de Aa + 25% de aa. Si en la generación inicial tenemos un 100% de heterocigotos y 0% de homocigotos, entonces en F_1 el número de los primeros será igual al 50%. Los individuos de F_2 son descendientes tanto de los homocigotos puros (aa, AA), como de los heterocigotos (Aa).

Estos últimos están representados por tres clases (Aa, AA, aa) que aparecen según las leyes de la segregación. Como resultado el número de heterocigotos (Aa) en F_2 constituye solamente el 25%. Este proceso de segregación de los heterocigotos se efectúa en cada generación, lo que conduce a la elevación del número de plantas homocigóticas (aa, AA) y a una disminución de la cantidad de heterocigotos (Aa). Es fácil establecer que este proceso de descenso del número de heterocigotos se expresa mediante la fórmula $1/2^n$, donde n es el número de generaciones de autopolinización. Para la sexta generación de autopolinización el número de heterocigotos (Aa) constituye $1/2^6$, lo que es igual a 1/64.

Los animales por regla general se reproducen mediante cruzamiento libre, representando poblaciones heterocigóticas complejas. La evolución y la selección de éstos transcurre sobre un fondo de heterocigosis. El mundo vegetal se divide con clara evidencia en tres grandes grupos según las particularidades de su reproducción: plantas de fecundación cruzada, que se cruzan libremente dentro de las poblaciones, constituyen comunidades heterocigóticas complejas; los autopolinizadores, en los cuales debido a una larga autofecundación forman poblaciones constituidas por individuos homocigóticos, y por último existen plantas denominadas apogámicas que se reproducen por vía asexual.

En 1903, Johannsen en su trabajo que se convertiría en clásico «Acerca de la herencia en las poblaciones y en las líneas puras», estudió la acción de la selección en las plantas durante los diferentes tipos de reproducción de las mismas. Estableció, que la selección es efectiva en las poblaciones mezcladas, genéticamente heterogéneas, pero que es infructuosa en las líneas puras homocigóticas hasta el momento en que aparezcan en éstas nuevas mutaciones. Puesto que los genotipos de las plantas dentro de los límites de una línea pura son idénticos, es que resulta lógico la ausencia del efecto de la selección. A la par con lo dicho, estos experimentos demostraron claramente que las diferencias individuales de las plantas que surgen debido a la influencia modificadora del medio ambiente, no se transmiten por la herencia. Johannsen realizó experimentos minuciosos con líneas puras y de una forma completamente convincente demostró la inefectividad de la acción selectiva en estas condiciones. Tomemos como ejemplo los experimentos de Johannsen sobre la selección según el tamaño de las semillas. En el transcurso de seis años Johannsen llevó a cabo la selección de semillas grandes y pequeñas dentro de los límites

de algunas líneas. Tanto unas como otras, dentro de los marcos de cada línea, produjeron descendencias idénticas. Al final del experimento resultó que la selección efectuada en el transcurso de éstos seis años no alteró el complejo hereditario de las líneas. En la línea de semillas grandes el peso de la descendencia de las semillas grandes y pequeñas representó un promedio de 0,667 y 0,662, correspondientemente (tabla 6). El peso de las semillas

Tabla 6

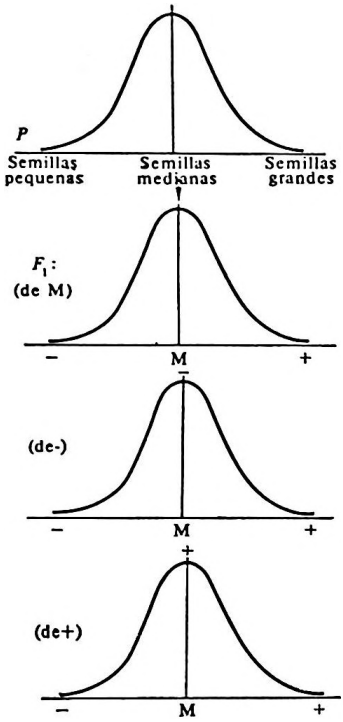
Resultados de los experimentos de Johannsen sobre la selección en dos líneas de frijoles en el aumento o disminución del peso de las legumbres (en cientos de gramos)

Año de selección	Línea de las semillas grandes				Línea de las semillas pequeñas			
	semillas pequeñas		semillas grandes		semillas pequeñas		semillas grandes	
	línea materna	de las plantas de semillas grandes	de las plantas de semillas pequeñas	línea materna	línea materna	de las plantas de semillas grandes	de las plantas de semillas pequeñas	línea materna
1902	60	63,2	64,9	70	30	35,8	34,8	40
1903	55	75,2	70,9	80	25	40,2	41,0	42
1904	50	54,6	56,9	87	31	31,4	32,6	43
1905	43	63,6	63,6	73	27	38,3	39,2	39
1906	46	74,4	73,0	84	30	37,9	39,9	46
1907	46	69,1	67,7	81	24	37,4	37,0	47
Promedio	51,7	66,7	66,2	79,2	27,8	36,8	37,4	42,8

grandes seleccionadas que se eligieron en calidad de progenitores en la primera línea fue de 0,792 g y el de las pequeñas de 0,517 g. Sin embargo, como lo demostró el experimento, estas diferencias tuvieron un carácter puramente fenotípico. Lo mismo concierne a la segunda línea, donde el peso medio de las semillas grandes fue de 0,428 g y el de las pequeñas de 0,278 g.

Los experimentos de Johannsen demostraron que las propiedades genotípicas de una línea pura que se conservan firmemente durante una larga serie de generaciones, son la capacidad, en determinadas condiciones externas, de dar la expresión media del carácter y un conjunto completo de desviaciones de esta media en respuesta a la acción de factores positivos o negativos del medio ambiente. Las desviaciones de la magnitud media es lo que se denomina modificaciones. Estas no influyen sobre el carácter de la descendencia, ya que en cada generación siguiente vuelve a desarrollarse una expresión media del carácter con sus divergencias (fig. 88).

Los experimentos de Johannsen sirvieron de base sólida para el establecimiento de las diferencias entre la herencia en las líneas puras y las poblaciones. Estableció que la variabilidad que se



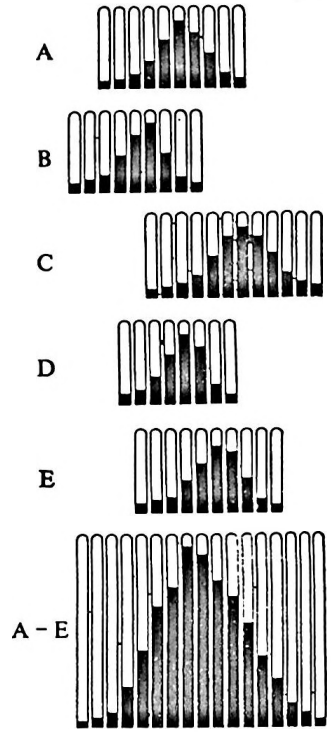


Fig. 88. Esquema de las desviaciones más y menos del carácter modificador al comparar los fenotipos de la descendencia obtenida de las plantas que tienen una manifestación media del carácter de las plantas + y — (—simboliza plantas de semillas pequeñas, *M* de semillas medianas y + de grandes)

Fig. 89. Población de frijoles que contiene cinco líneas puras *A* — *E*

La variabilidad en cada línea (*A*, *B*, *C*, *D*, *E*) se representa por separado. Por medio de la autopolinización de plantas aisladas de las poblaciones *A*—*E* puede separarse cualquier línea pura que entre en su composición (según Johannsen)

detecta en las plantas pertenecientes a una línea pura (excluyendo los mutantes poco frecuentes), es modificadora. Esta no se transmite por herencia y por ello es que no ofrece material para la acción de la selección. En las poblaciones la selección es efectiva, pues en éstas pueden determinarse las formas genotípicamente desviadas que transmiten en forma constante sus particularidades genéticas a la descendencia. Cualquier población de autopolinizadores, en la naturaleza, es una mezcla de muchas líneas puras.

De esta manera, observamos que existen tres tipos de poblaciones. En primer lugar, las poblaciones de de plantas de fecundación cruzada y las de animales. Estas recibieron el nombre de

poblaciones mendelianas, puesto que la herencia se recombina por las leyes mendelianas complicándose por una serie de regularidades estadísticas adicionales. El segundo lugar, lo ocupan las poblaciones de autopolinizadores, donde, por regla general, no existe cruzamiento entre los diferentes individuos. Estas poblaciones están divididas en un complejo de líneas. En tercer lugar, las poblaciones de organismos que se reproducen por apogamia, donde debido a la reproducción vegetativa se conserva la mezcla de clones, cada uno de los cuales contiene individuos con genotipos homo o heterocigótico.

En las poblaciones mendelianas está representada ampliamente la heterocigosis. Sin embargo, a pesar de la variedad de individuos que existe en éstas, pueden encontrarse biotipos idénticos, o sea, organismos con genotipos iguales, los que pueden ser homo o heterocigotos. En las líneas puras encontramos individuos de un mismo biotipo homocigótico, mientras que en las poblaciones de formas que se reproducen por apogamia, en la composición de los clones también entran biotipos iguales, pero preferentemente en forma de individuos heterocigóticos.

Las poblaciones mendelianas conservan su variedad genotípica, ya que el cruzamiento libre traslada a una masa de cambios recesivos al estado heterocigótico. Cada individuo en éstas es heterocigoto para una gran cantidad de genes. Esta diversidad genética se mantiene y se desarrolla durante largo tiempo, garantizando una inmensa variabilidad hereditaria en las poblaciones de las especies de fecundación cruzada.

Los experimentos de Johannsen demostraron con exactitud que la selección traslada las particularidades de las plantas a sus descendientes sólo en aquel caso en que se trata de las poblaciones, o sea, de un material genético variado. La selección dentro de cualquier línea pura es completamente estéril, exceptuando el caso en que aparezcan mutaciones. Por regla general las desviaciones de las plantas dentro de una línea pura posee un carácter modificador fenotípico. El trabajo minucioso con líneas puras permitió interpretar claramente la relación existente entre el fenotipo y el genotipo presentando pruebas experimentales de que las modificaciones no se heredan. Quedó establecido que la variabilidad de los organismos vivos posee tres orígenes: 1) la aparición de modificaciones que pertenecen a la categoría de las variaciones no hereditarias; 2) la aparición de la recombinación de los genes y 3) el fenómeno de las mutaciones. Las dos últimas categorías son las formas fundamentales de la variabilidad hereditaria, que precisamente constituyen el material inicial para la selección y la evolución. La genética de las líneas puras proporcionó inmensos logros en la práctica. Mediante el análisis de las líneas puras fueron establecidos los principios de la selección individual que hasta el momento constituyen uno de los fundamentos del trabajo de selección. En la fig. 89 se muestra que la

mezcla de cinco líneas de frijoles origina una población de autopolinizadores. Solamente la selección individual en la autopolinización de plantas por separado, puede [illegible] separación de algunas líneas de esta población y [illegible] la selección individual concierne tanto a las [illegible] polinizadas (selección analítica) como a la des[illegible] idos obtenidos por el cruzamiento de líneas de [illegible] una especie, de líneas de diferentes [illegible] y por último del cruzamiento de d[illegible] de síntesis).

En la actualidad la Genética de [illegible] en la base de los métodos de selección de las plantas autopolinizadoras y de fecundación cruzada formando principios de la selección animal. En todos dichos casos tanto para la transformación de poblaciones, como para la obtención de híbridos comerciables, su material inicial se crea al emplear ampliamente los métodos de cultivo o cría consanguíneos.

La aplicación no crítica del estudio sobre la ineficacia de la selección dentro de los límites de las líneas puras ocultaba el riesgo de una gran delimitación de la variabilidad de los organismos. Estos errores fueron cometidos realmente por Lotsy y otros autores los que apoyándose en el estudio de las líneas puras, llegaron a la enunción del principio de la invariabilidad génica. Lotsy suponía que la evolución se llevaba a cabo solamente mediante el cruzamiento sobre la base de las combinatóricas de los genes invariables eternamente iguales a sí mismos.

Sin embargo, ya en los experimentos del propio Johannsen fue demostrado el fenómeno de las mutaciones, cuando los cambios de los genes desviaban las propiedades de las líneas puras. El proceso de mutaciones resultó un proceso infalible perpetuo de alteraciones en los genes. A la luz de lo mencionado, quedó esclarecida la estabilidad relativa de las líneas puras, ya que los procesos de mutaciones alteran las bases genotípicas de cualquier forma orgánica.

LEY DE LAS SERIES HOMÓLOGAS EN LA VARIABILIDAD HEREDITARIA. Al investigar las leyes de la variabilidad hereditaria dentro de las poblaciones de una especie y al comparar las poblaciones de diferentes especies, en 1920 N. I. Vavílov descubrió determinadas regularidades que él fomuló en forma de la ley de las series homólogas en la variabilidad hereditaria. N. I. Vavílov enunció:

«1. Las especies y géneros genéticamente cercanos se caracterizan por poseer series similares de variabilidad hereditaria, con tal regularidad que conociendo una serie de formas dentro de los límites de una especie, puede preverse el hallazgo de formas paralelas en otras especies y géneros. Cuanto más próximos estén situados genéticamente, en el sistema general, los géneros y lin-

Fig. 90. N. I. Vavílov (1887-1943)

neones, tanto más completa será la similitud en las series de su variabilidad.

2. Familias enteras de plantas generalmente se caracterizan por un determinado ciclo de variabilidad, que pasa a través de todos los géneros y especies que componen las mismas».

La ley de las series homólogas, según la idea de N. I. Vavílov se basa en la aparición de mutaciones similares en las formas genéticamente afines de los organismos.

Es obvio, que las regularidades descubiertas en la aparición de determinadas mutaciones y de complejos de genotipos similares, permitió predecir la existencia de determinadas formas en una especie no investigada, sobre la base de los datos de otra especie estudiada. N. I. Vavílov aplicó la ley de las series homólogas de la variabilidad hereditaria a la búsqueda de nuevas formas de plantas. Uno de los ejemplos de esta índole es la predicción hecha por N. I. Vavílov. A raíz de detectar el trigo original suave sin lígula señaló la necesidad de buscar semejantes formas en otras gramíneas, cosa que realizó brillantemente. Fue hallado el maíz sin lígula, arroz, avena, mijo, grama, poa y la cebada.

Lo más importante de la ley de las series homólogas de N. I. Vavílov lo constituyó el nuevo enfoque en la comprensión de los principios de las mutaciones en la naturaleza. Resultó que el proceso de la variabilidad hereditaria, que se conceptuaba

anteriormente como un fenómeno puramente estadístico, en realidad está programado por parte del genotipo históricamente formado.

N. I. Vavílov consideraba, que las mutaciones son casuales, si se toman cada una por separado. No obstante, a la luz de las series homólogas, éstas se convierten, en el sistema de la especie, en fenómeno regular. La desviación casual se convierte en necesaria. Las mutaciones que transcurren aparentemente de modo fortuito en diferentes sentidos, si se unen, se detecta en ellas una ley general.

Al emplearse de un modo no crítico la ley de las series homólogas en la variabilidad hereditaria se corre el peligro de limitar sin querer los principios de la variabilidad dentro de las especies. Tales errores fueron cometidos realmente por una serie de discípulos de N. I. Vavílov, aunque, el propio autor de la ley desarrolló un amplio enfoque darvinista en el problema de los factores y las leyes de las mutaciones, comprendiendo desde las posiciones de la Genética todo el valor de la teoría de Darwin acerca de la variabilidad indeterminada.

Al analizar los momentos peligrosos que pudieran debilitar la ley de las series homólogas de la variabilidad hereditaria comprendemos con más claridad su significado real.

En primer lugar, partiendo de la misma, una serie de autores llegaron a la conclusión sobre la existencia de una programación de mutaciones rígida y con un solo significado, faltaba solamente dar un paso para llegar a la conclusión acerca de la programación de los procesos evolutivos, que en particular fue hecha por L. S. Berg en su libro «Nomogénesis».

El segundo error de principios residió al aceptar que la variabilidad hereditaria por sí misma es en primer lugar una propiedad adaptativa de los organismos. Esta conclusión se hace de la ley de Vavílov en nuestros días. Por cuanto la ley de las series homólogas establece el papel programador del genotipo y éste se forma históricamente bajo la influencia de la evolución adaptativa, a una serie de autores les parece fundamentado suponer que la selección crea la programación que asegura el carácter adaptativo inicial de las propias mutaciones.

N. I. Vavílov interpretó la variabilidad hereditaria como indeterminada con relación a su valor adaptativo. Al hablar sobre el hecho de la aparición de mutaciones aisladas él subrayó, que éstas surgen objetiva y casualmente y transcurren en diferentes sentidos, al negar el carácter adaptativo de la variabilidad homóloga, él concibió en el origen de la capacidad adaptativa de las formas orgánicas toda la importancia de la selección que fue fundamentada por Darwin. N. I. Vavílov consideró que en la ley de las series homólogas se manifiesta solamente la similitud en los procesos mutacionales, cuyo ejemplo es el origen común de las formas dadas y comparadas.

El tercer error considerable, compartido por una serie de científicos fue el de estimar a ley de las series homólogas como una regularidad que agota todas las categorías de las mutaciones dentro de los límites de una especie. Evidentemente, la aparición de lo nuevo es lo principal en la evolución y por eso las especies se caracterizan tanto por la similitud evolutiva, como por las diferencias genotípicas adquiridas. Es lógico, que la ley de las series homólogas se refiera a un grupo de genes, solamente de aquellas especies que posean algo en común desde el punto de vista de la evolución. Los nuevos genes por los que se diferencian las especies, deben estar involucrados en la variabilidad no homóloga. De acuerdo con las ideas de Vavílov, esta ley en realidad no es el lecho de Procusto que limite la variabilidad, por el contrario, ésta abrió efectivamente amplias posibilidades a la variabilidad. La ley de las series homólogas de la variabilidad hereditaria reflejando el origen común de las formas orgánicas, permite realmente en los límites de esta similitud descubrir las orientaciones en el sistema de las variaciones hereditarias. Sin embargo, esta ley no puede hacer pronósticos acabados sobre el futuro en la evolución de las formas orgánicas, ya que la transformación histórica de las especies está ligada a la aparición de nuevos genotipos integrados sobre la base de las transformaciones adaptativas.

El intento de considerar la ley de las series homólogas de la variabilidad hereditaria como una regularidad que agota la variabilidad natural de las especies conduce también a una interpretación incorrecta de las fuentes de la evolución, que están ligadas al fenómeno de la microevolución. La base para la actividad de la selección en la naturaleza está constituida no por mutaciones homólogas simples, sino que la Genética de las poblaciones demostró las reservas colosales de las mutaciones, la combinación de éstas y sus sistemas de integración es lo que abre ante la selección en la naturaleza inapreciables posibilidades de la transformación hereditaria de los organismos vivos.

N. I. Vavílov comprendió profundamente este enfoque genético darvinista en el problema de la evolución. Combinó el estudio de las series homólogas en la variabilidad hereditaria con la aceptación de la ilimitada amplitud de posibles transformaciones genotípicas en el sistema de una especie, considerando que centenares de caracteres con que se diferencian las formas hereditarias y que son accesibles al análisis, ya en la actualidad, producen al combinarse miles de millones de formas, o sea, prácticamente ofrecen posibilidades casi ilimitadas. Vavílov tenía en cuenta que los nuevos métodos de la Genética experimental descubren realmente la complejidad infinita de los genotipos dentro de una especie y crean un enorme potencial para las nuevas formaciones.

El cuarto error considerable cometido por algunos autores consistió en admitir el papel evolutivo de los genes sólo en los

procesos de la microevolución, o sea, en la formación de razas y especies. Este error resultó estar vinculado al análisis de los fenómenos generales de los paralelismos entre familias, clases y tipos.

Los fenómenos de la macroevolución, es decir, la aparición de géneros, familias, clases y tipos comenzaron a representarlos como procesos singulares que no estaban ligados a los del origen de las especies. Esta idea acerca de la diferencia en principio en la evolución de las categorías de los sistemas inferiores (especie y subespecie), de las superiores (género, familia, clase y tipo), fue expuesta por E. Cope, W. Johannsen y Yu. A. Filípchenko. Suponían que la evolución de las categorías superiores del sistema se debía a la transformación del citoplasma celular, mientras que la de las especies estaba basada en cambios de los genes localizados en los cromosomas. Vavílov no aceptó esta concepción dualista e injustificada de la evolución. En completo acuerdo con los materiales de la Genética experimental acerca de la importancia rectora de las mutaciones génicas, que en nuestros días se han confirmado con el desarrollo inmenso de la Genética de las poblaciones y la molecular, escribió: «La suposición de Cope, Johannsen y Filípchenko acerca de que la evolución de los géneros y los caracteres genéricos transcurre por una vía diferente que los de las especies y hasta se condiciona por portadores especiales que pueden situarse en el protoplasma y no en el núcleo, a nosotros, como a la mayoría de los genéticos, nos parece poco convincente y no se corrobora por los datos de la Genética moderna» (Obras completas, 1966, pág. 95).

Al fundamentar la tesis sobre la impotancia rectora de las mutaciones génicas en el proceso evolutivo, N. I. Vavílov desarrolló profundamente los principios de la teoría cromosómica de la herencia en los fenómenos de la evolución. A la luz de los datos de esta teoría, analizó su ley de las series homólogas de la variabilidad hereditaria. Como demostraciones convincentes a favor de la homología verdadera de los genes en las especies cercanas, Vavílov citó los datos de la genética comparativa de dos especies de la *Drosophila*, donde con los experimentos directos quedó probado que para la *D. melanogaster* y la *D. simulans*, no menos de 26 genes homólogos entre los estudiados se hallan distribuidos uniformemente en los cromosomas correspondientes.

ESTUDIO DE N. I. VAVÍLOV ACERCA DEL MATERIAL INICIAL PARA LA SELECCIÓN

Al estudiar la variabilidad intraespecífica, N. I. Vavílov llegó a la conclusión de que la especie es un sistema morfo-fisiológico complejo de razas unidas en sentido ecolo-geográfico y surgidas sobre la base de la diferenciación genotípica de partes de la especie. Utilizó en gran escala el principio del materialismo dialéctico demostrando que las especies son eslabones dentro de la

cadena infinita que surgen como algo nuevo mediante la destrucción de lo viejo, sobre la base de la unidad entre lo interrumpido y lo ininterrumpido, con la particularidad de que, a cada momento de su existencia la especie se adapta a la diversidad del medio en que habita, siendo ésta un sistema complejo de formas hereditarias. La especie linneana, según Vavílov, es un sistema morfo-fisiológico, aislado y móvil ligado en su génesis a un determinado hábitat y área. Estos principios de Vavílov descansan sobre la base de un enfoque moderno en el problema de la especie constituyendo el principio de las concepciones ecolo-geográficas en la selección, cuyo empleo ha posibilitado una nueva tendencia fructífera y original de los trabajos encaminados a la selección mediante la síntesis, del concepto contemporáneo de la correlación entre las líneas puras y de las poblaciones en la evolución y la selección.

N . I. Vavílov consideraba que la principal tarea de la selección es encontrar el mejor material inicial y desarrollar los métodos científicos más adecuados para la transformación de la herencia en los procesos de obtención de nuevas variedades. «Para la selección científica — escribió N. I. Vavílov — la teoría de la evolución de Darwin se convirtió en un principio. Las investigaciones experimentales de la heredabilidad y la variabilidad, las leyes establecidas por Mendel, el estudio de las líneas puras de Johannsen, la teoría de las mutaciones, llevan al biólogo a dirigir concientemente la herencia de los organismos vivientes. El investigador comienza a establecer las regularidades en el proceso de formación» (Obras completas, 1966, pág. 167). Y más adelante: «Estamos extremadamente interesados en la elaboración teórica de la Genética general: los problemas del gene, de la teoría de las mutaciones, de la de la hibridación, de los problemas de la Fenogenética, ya que no dudamos que el trabajo teórico profundo propociona un nuevo estímulo a la selección» y que todo esto «. . . lleva al investigador a dirigir realmente a los organismos vivos, o sea, al objetivo final de la Biología moderna» (Obras completas, 1966, pág. 175). Según la definición famosa de N. I. Vavílov «la selección en la evolución dirigida por la voluntad humana» (Obras completas, 1966, pág. 169).

Desde sus amplias posiciones de evolucionista y genetista N. I. Vavílov llegó a elaborar los problemas de los centros de origen de las plantas cultivadas, a crear la famosa colección mundial del Instituto de la Fitocultura de la URSS y los problemas de la introducción de las plantas. La colección mundial de plantas, debido al enfoque genético de su creador, se convirtió en un conjunto inmenso de genotipos específicos e intraespecíficos.

En el libro publicado en el año 1926 «Centros de origen de las plantas cultivadas», N. I. Vavílov expone sus opiniones sobre el problema de la procedencia de las plantas cultivadas y sobre los métodos para estudiar esta cuestión. Analiza en especial la

cuestión sobre los centros geográficos de formación del trigo, avena, mijo, lino, cáñano y señala los centros principales de procedencia de las plantas cultivadas. Al hacer las conclusiones de este trabajo, N. I. Vavílov estableció que sólo dominando los conocimientos de Taxonomía y Geografía el genetista puede hacer un planteo conciente ante la elección de las formas iniciales para el cruzamiento y ante la solución de las tareas de la filogenía experimental.

N. I. Vavílov es el iniciador de la amplia investigación experimental de las cuestiones de la variabilidad geográfica de las plantas cultivadas. En 1923, comenzó a realizar las llamadas siembras geográficas. Se estudió la variabilidad del período vegetativo, la cantidad y calidad de las proteínas y el almidón en las plantas de cereales y leguminosas, el contenido de grasa en las semillas, la resistencia a las enfermedades y plagas, la formación de tubérculos en la patata, etc. Estos trabajos jugaron un papel destacado en la fundamentación de los principios de la división en regiones de las variedades y nuevos cultivos.

N. I. Vavílov organizó la primera estación experimental polar, las estaciones para introducir los cultivos en el Este de Kazakstán, los Cárpatos y en las alturas del Pamir. La ley de las series homólogas en la variabilidad hereditaria, el descubrimiento de centros de origen de las especies vegetales de cultivo, la creación de una colección mundial de plantas, las siembras geográficas, todo esto se tomó como fundamento para la creación de métodos genéticos de selección movilizando la diversidad genética de las líneas puras, las poblaciones, variedades e híbridos de plantas de cultivo con el fin de emplearlas en la práctica.

El estudio sobre el material inicial ocupó un lugar central en todo el trabajo de N. I. Vavílov sobre los fundamentos genéticos de la selección de las plantas. La elaboración de éste, hizo variar los principios de enfoques genéticos en la selección de las plantas. En el año 1935 apareció el trabajo generalizado de N. I. Vavílov «Fundamentos botánico-geográficos de la selección». En este trabajo fue desarrollada la teoría del material inicial y fueron elaborados profundamente los principios ecolo-geográficos de la selección. Sobre la base de esta última se instauró el empleo de todo el potencial mundial ecolo-geográfico, tanto de las fuentes de la formación principal, así como para toda el área de cada una de las especies vegetales de cultivo. La teoría genética del cruzamiento obtuvo nuevas perspectivas sobre esta base. «Para el trabajo genético, —escribía N. I. Vavílov,— encaminado a crear combinaciones más racionales de parejas, se abre un campo excepcional del trabajo sumamente fascinante y apremiante. El amplio material de variedades nuevas recolectado en diferentes países y que tenemos a nuestra disposición, ha permitido plantear, en grandes proporciones, el problema del empleo de los cruzamientos geográficos» (Obras completas, 1966, pág. 225).

En nuestros días la Selección recoge los frutos de la teoría y de la actividad investigativa de N. I. Vavílov. Los fundamentos científicos de la Selección se impregnaron de los principios de la Genética. En el estudio acerca del material inicial, la Selección adquiere nuevos aspectos asociados a una profundización excepcional hacia el problema del gene, el de las recombinaciones en los virus, bacterias, plantas y animales, que permiten el replanteo de la obtención de nuevas formas.

Preguntas para discutir

8-1. ¿En qué consiste la diferencia principal entre el fenotipo y el genotipo?

8-2. ¿Por qué al estudiar la cuestión acerca de la correlación entre el genotipo y el fenotipo en los procesos del desarrollo, tiene una gran significación la observancia de los gemelos monovitelinos (idénticos)?

8-3. En una pareja de gemelos uno era varón y el otro hembra. ¿Cómo se denomina este tipo de gemelos? ¿Por qué en este caso resultó posible el nacimiento de una niña y un varón?

8-4. ¿Se heredan los caracteres del organismo como tales?

8-5. ¿Qué es la norma de reacción? ¿Por qué en el conejo de Himalaya le crecen pelos negros en lugar de los blancos después de arrancárselos del lomo y situarlo en condiciones de frío?

8-6. Exponga el concepto de homeóstasis fisiológica. ¿Cuá es la particularidad principal en la reacción de los organismos a las alteraciones en las condiciones del medio ambiente?

8-7. ¿Qué es la manifestación y qué es la expresividad de un carácter?

8-8. ¿A qué conduce la autopolinización u otras formas de reproducción consanguínea, si se efectúan sistemática ente en una sucesión de generaciones?

8-9. ¿En qué residía la esencia del análisis de Mendel de las consecuencias en una población de plantas durante la autopolinización de las mismas?

8-10. ¿Qué parte de los heterocigotos va a caracterizar la octava generación de los autopolinizadores, si la población inicial estaba constituida por heterocigotos?

8-11. Caracterice los principios del trabajo de Johannsen con poblaciones y líneas puras.

8-12. ¿Por qué no se transmiten por herencia las desviaciones hacia el lado más o menos de la media en las líneas puras?

8-13. ¿Será efectiva la selección al tomar como progenitores diferentes plantas de una línea pura?

8-14. ¿Qué puede hacer variar la nerencia de una línea pura?

8-15. ¿Cuál es la diferencia que existe entre poblaciones de plantas de fecundación cruzada, o animales en comparación con poblaciones de autopolinizadores o de formas de reproducción apogámica?

8-16. ¿En qué consiste la diferencia en el mecanismo de la selección, cuando ésta se emplea para los vegetales de fecundación cruzada, las poblaciones animales, de autopolinizadores y de formas apogámicas, dentro de los límites de un clon o de una línea pura?

8-17. ¿Cuáles son las causas del progreso durante la selección dentro de los límites de una línea pura o de un clon?

3-18. Formule los principios de la ley de las series de la variabilidad homóloga, según N. I. Vavílov.

8-19. ¿En qué radica la esencia del nuevo enfoque de Vavílov en los procesos de variabilidad hereditaria intraespecífica?

8-20. ¿Por qué la ley de la variabilidad homóloga sostiene la base de las búsquedas de nuevas formas valiosas de plantas?

8-21. ¿Cuál es la significación de la colección mundial en la selección de las plantas?

8-22. ¿Qué han ofrecido las investigaciones de las siembras geográficas?

8-23. ¿En qué consisten los principios de los fundamentos botánico-geográficos de la Selección?

IX Genética de caracteres cuantitativos

En 1908, H. Nilsson-Ehle descubrió el principio de la herencia polimérica. El fenómeno de la polimería consiste en que el desarrollo de los carácteres, comúnmente de los cuantitativos, se garantiza por la actividad de una serie de genes que actúan unívocamente. Las investigaciones de A. Lang (1911), E. M. East (1910, 1916), J. M. Rasmussen (1933), K. Mather (1941) hicieron grandes aportes en el desarrollo de esta tendencia.

El establecimiento del principio de la polimería tuvo grandes consecuencias, demostrando que la herencia mendeliana además de las particularidades cualitativas, abarca a todas las diferencias cuantitativas hereditarias de los organismos vivientes. Entre éstas encontramos muchos caracteres de las razas y especies, así como también importantes particularidades económicas de los animales y las plantas, tales como: la fertilidad, productividad, rendimiento de la lana, productividad de las gallinas, remuneración de la alimentación, etc. En el ser humano la herencia cuantitativa concierne al peso, grado de pigmentación, intelectualidad general, propensión a las enfermedades, etc.

Un gran aporte a la teoría de la herencia polimérica contribuyó Mather, quien empleó en esta rama nuevos métodos estadísticos de análisis, proponiendo el término «poligenes». Actualmente se aceptó ampliamente el término «herencia poligénica».

Los caracteres cuantitativos dependen en gran medida de los factores externos haciendo resaltar con más agudez el problema de la correlación entre la variabilidad genotípica y fenotípica. La esencia de la acción de los poligenes está vinculada a que estos últimos por separado influyen débilmente sobre el desarrollo de un carácter, puesto que su expresión efectiva exige todo un sistema de poligenes. Para describir la variabilidad cuantitativa se emplea en grandes proporciones la estadística. El fnndamento

de la herencia poligénica son unidades discretas, los genes, cuya transmisión hereditaria se rige por las leyes mendelianas.

HERENCIA DE LOS CARACTERES POLIMÉRICOS EN EL MAÍZ. Observemos el principio de la herencia mendeliana en las condiciones de segregación trihíbrida para los genes que influyen en el número de hileras de granos en la mazorca de maíz. El análisis genético demostró que ocho hileras de granos en la mazorca se desarrollan cuando existen seis poligenes recesivos (unívocos) en forma de tres pares de alelos $a_1a_1a_2a_2a_3a_3$. Las plantas que poseen genotipo $A_1A_1A_2A_2A_3A_3$ tienen 20 hileras. Aceptemos, que cada uno de los genes dominantes (no importa de qué pareja) independientemente de si posea la homocigosis o heterocigosis que, determina el desarrollo de dos hileras adicionales en comparación con las 8 hileras que caracterizan a las plantas con genotipo $a_1a_1a_2a_2a_3a_3$. Sigamos el curso de la herencia de la cantidad de hileras en dos generaciones después del cruzamiento del maíz que poseía 20 hileras de granos en la mazorca con otro que tenía 8 hileras:

P $A_1A_1A_2A_2A_3A_3 \times a_1a_1a_2a_2a_3a_3$
20 hileras 8 hileras

F_1 $A_1a_1A_2a_2A_3a_3$
14 hileras

F_2 $27\ A_1A_2A_3 : 9\ A_1A_2a_3 : 9\ A_1a_2A_3 : 9\ a_1A_2A_3 : 3\ A_1a_2a_3$
$: 3\ a_1A_2a_3 : 3\ a_1a_2A_3 : 1\ a_1a_2a_3$

La primera generación resultó intermedia: sus plantas tienen en las mazorcas un promedio de 14 hileras de granos. En la segunda ocurre la segregación, comenzando desde las plantas que poseen 20 hileras hasta las plantas que tienen 8. Sin embargo, la fórmula expuesta anteriormente de la segregación trihíbrida con respecto al fenotipo, en la segunda generación (F_2) no puede descubrir el cuadro verdadero de la diversidad de caracteres en los individuos en ésta. En el caso dado de la herencia poligénica, cada uno de los genes unívocos realiza su acción prescindiendo de si se encuentra en estado homocigótico o heterocigótico. Sólo teniendo en cuenta la segregación genotípica, podemos valorar el cuadro de segregación para los factores poliméricos. El empleo de los datos de la segregación genotípica en el cruzamiento trihíbrido, hace que sin realizar grandes esfuerzos podamos caracterizar el cuadro de la distribución de los genes poliméricos y en relación a esto hacer un panorama general de la segregación con respecto a los fenotipos entre los individuos de la segunda generación (tabla 7).

En la fig. 91 se muestra un ejemplo que caracteriza el cuadro típico de la herencia en la polimería.

HERENCIA DEL MOTEADO DE BLANCO EN LOS CONEJOS. Los diferentes grados de moteado de blanco en el conejo holandés, están condicionados

Tabla 7

Segregación en F_2 durante el cruzamiento trihíbrido

Número de individuos de 64	Genotipo	Cantidad de genes dominates poliméricos	Número de hileras	Número de hileras en total	Número de individuos de 64
	$A_1A_1A_2A_2A_3A_3$	6	20		
	$A_1A_1A_2A_2A_3a_3$	5	18		
	$A_1A_1A_2A_2a_3a_3$	4	16		
	$A_1A_1A_2a_2A_3A_3$	5	18		
4	$A_1A_1A_2a_2A_3a_3$	4	16		
2	$A_1A_1A_2a_2a_3a_3$	3	14		
1	$A_1A_1a_2a_2A_3A_3$	4	16		
2	$A_1A_1a_2a_2A_3a_3$	3	14	20	1
1	$A_1A_1a_2a_2a_3a_3$	2	12	18	6
2	$A_1a_1A_2A_2A_3A_3$	5	18	16	15
4	$A_1a_1A_2A_2A_3a_3$	4	16	14	20
2	$A_1a_1A_2A_2a_3a_3$	3	14	12	15
4	$A_1a_1A_2a_2A_3A_3$	4	16	10	6
8	$A_1a_1A_2a_2A_3a_3$	3	14	8	1
4	$A_1a_1A_2a_2a_3a_3$	2	12		
2	$A_1a_1a_2a_2A_3A_3$	3	14		
4	$A_1a_1a_2a_2A_3a_3$	2	12		
2	$A_1a_1a_2a_2a_3a_3$	1	10		
1	$a_1a_1A_2A_2A_3A_3$	4	16		
2	$a_1a_1A_2A_2A_3a_3$	3	14		
1	$a_1a_1A_2A_2a_3a_3$	2	12		
2	$a_1a_1A_2a_2A_3A_3$	3	14		
4	$a_1a_1A_2a_2A_3a_3$	2	12		
2	$a_1a_1A_2a_2a_3a_3$	1	10		
1	$a_1a_1a_2a_2A_3A_3$	2	12		
2	$a_1a_1a_2a_2A_3a_3$	1	10		
1	$a_1a_1a_2a_2a_3a_3$	0	8		

por la segregación según cuatro parejas de alelos. Los conejos holandeses pueden presentar diferentes coloraciones, desde un color liso con pequeñas marcas blancas en la nariz y las patas, que a través de una serie de transiciones llegan a convertirse en animales casi totalmente blancos, portadores de apenas pequeñas manchas pigmentadas en las mandíbulas, alrededor de los ojos y en las raíces de la cola, manifestando con frecuencia la heterocromía de los ojos. Los animales completamente pigmentados son homocigóticos para los cuatro alelos dominantes unívocos $A_1A_1A_2A_2A_3A_3A_4A_4$. Los conejos holandeses blancos son homocigotos para los cuatro alelos recesivos $a_1a_1a_2a_2a_3a_3a_4a_4$. Los diversos grados de manifestación del moteado de blanco en los conejos holandeses (fig. 92) están condicionados por las distintas combinaciones de los genes dominantes y recesivos en estas cuatro parejas de alelos.

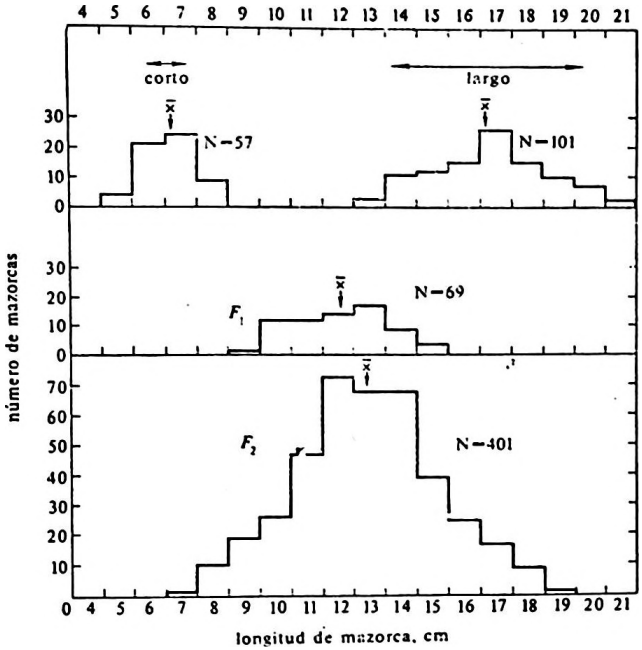


Fig. 91. Herencia de los caracteres cuantitativos en el maíz

La hilera superior representa la característica de las formas progenitoras iniciales y la variabilidad de sus caracteres: F_1 representa la variabilidad según la longitud de la mazorca entre los híbridos de la primera generación; F_2 muestra la misma sólo que para las plantas de la segunda generación; N—número de mazorcas estudiadas; $\bar{x}$—media, que caracteriza a una hilera dada de variabilidad (según Emerson y East)

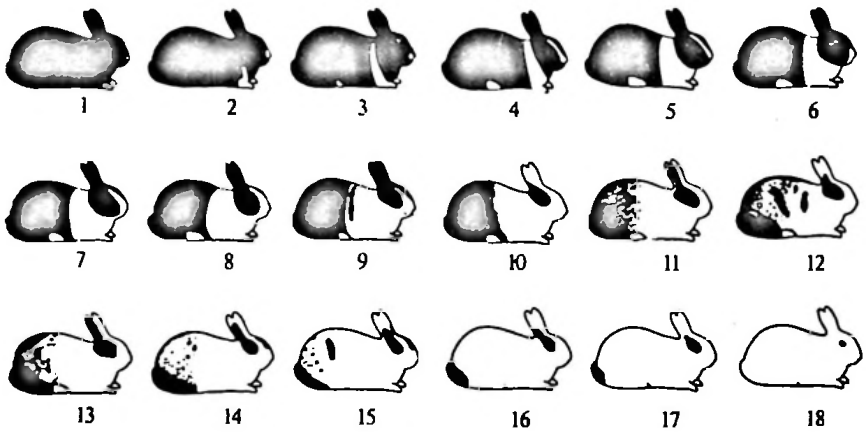


Fig. 92. Variabilidad del moteado blanco en los conejos (*1—18*), condicionada por diferentes combinaciones de genes poliméricos y series de alelos (según Castle)

CUADRO GENERAL DE LA POLIMERÍA Y LA TRANSGRESIÓN. La complejidad de la segregación con respecto a las particularidades cuantitativas aumenta en la medida de que lo hace el número de parejas segregadas de genes polímeros. En la tabla 8 se expone este cuadro

Tabla 8

Número de clases de individuos en las segregaciones en diferentes grados de polimería

Número de pares de alelos poliméricos segregados	Número de factores poliméricos en comparación con la presencia de éstos (n) en los heterocigotos											Número de clases genotípicas
	−5	−4	−3	−2	−1	n	+1	+2	+3	+4	+5	
1					1	2		1				4
2				1	4	6	4	1				16
3			1	6	15	20	15	6	1			64
4		1	8	28	56	70	56	28	8	1		256
5	1	10	45	120	210	252	210	120	45	10	1	1024

para la segregación de los cruzamientos desde el monohíbrido hasta el pentahíbrido. Existen datos, de que a la par con los genes poliméricos que se encuentran localizados en diferentes loci de cromosomas distintos, tiene gran valor para la herencia de los caracteres cuantitativos el fenómeno del alelismo múltiple. La proporción de los alelos dentro de una serie alelomórfica dada puede ejercer influencia sobre los caracteres cuantitativos. La herencia del moteado de blanco en los conejos está condicionado tanto por los genes poliméricos que se encuentran distintamente localizados, como por la influencia de alelos múltiples.

K. Mather propuso introducir el concepto sobre las diferencias existentes entre los «genes principales» que influyen en la aparición de caracteres cualitativos y la acción de los poligenes, responsables de la transmisión de los caracteres cuantitativos. Estos sistemas de genes, según Mather, tienen localización distintamente en la sustancia del cromosoma. Los genes principales están localizados en la eucromatina, y los poligenes en la heterocromatina. Esta diferencia no excluye, por supuesto, todas las transiciones de los genes comunes hacia los poligenes.

En dependencia de la distribución de los genes poliméricos en los progenitores, se obtiene un cuadro distinto de distribución de las particularidades cuantitativas en la descendencia. Desde el punto de vista de la selección, tiene gran significado el fenómeno denominado transgresión en la segregación. En este caso, cierto número de individuos en la segunda generación supera a sus progenitores iniciales por un carácter cuantitativo dado

Fig. 93. Transgresión con la segregación en F_2, después de cruzar variedades de trigo compacto y *square-head*

En algunas plantas en F_2, estos caracteres se manifiestan con más fuerza que en los progenitores

y el resto empeora. Así en el cruzamiento dihíbrido, si los progenitores iniciales poseían los genotipos *AAaa* y *aaBB* en la segunda generación tendremos la siguiente distribución de los factores poliméricos (transgresión):

Genotipos *P*	*AAbb* × *aaBB*		
Cantidad de factores dominantes	2	2	
F_1	*AaBb*		
Cantidad de factores dominantes	2		
F_2			
Cantidad de factores dominantes	4 3	2 1 0	
Cantidad de individuos (proporción)	1 4	6 4 1	

Es evidente, la significación de la transgresión durante la segregación (fig. 93), cuando ésta se efectúa en los trabajos de seleccionadores de plantas y animales. La selección en estos casos está dirigida a conservar y solidificar los grupos de organismos poseedores de la mayor cantidad de genes poliméricos beneficiosos.

Cabe recordar, sin embargo, que la transgresión puede ser positiva o negativa, lo que puede explicarse mediante el siguiente ejemplo:

P	*AAbb* × *aaBB*	
F_1	*AaBb*	
F_2	*AABB*	(transgresión positiva)
aabb		(transgresión negativa)

Observamos, que la segregación del genotipo *AABB* mejoró los caracteres del individuo en comparación con ambos progeni-

tores y con el individuo de F_1. Por otra parte la segregación del individuo *aabb* empeoró sus caracteres.

MÉTODOS FUNDAMENTALES DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL FENÓMENO DE LA POLIMERÍA. El trabajo del genetista y del seleccionador exige una descripción cuantitativa de la variabilidad de los organismos, sin la cual es imposible resolver los problemas del análisis de la herencia, ni de la selección. Exponemos fundamentos de los métodos que se emplean en el análisis matemático de la transmisión de las particularidades cuantitativas. Esto lo haremos en el ejemplo de la altura del tallo de maíz dentro de los límites de una línea pura. En la tabla 9, se exponen los datos

Tabla 9

Distribución variacional de 1000 plantas de maíz según la altura del tallo

Límites de las clases, cm	x media para la clase	f número de individuos en la clase	fx	fx^2
100,0—109,9	105	0	0	0
90,0—99,9	95	20	190	18 050
80,0—89,9	85	30	2 550	216 750
70,0—79,9	75	80	6 000	450 000
60,0—69,9	65	160	10 400	676 000
50,0—59,9	55	240	13 200	726 000
40,0—49,9	45	200	9 000	405 000
30,0—39,9	35	160	7 400	259 000
20,0—29,9	25	100	2 500	62 500
10,0—19,9	15	10	150	2 250
0,0—9,9	5	0	0	0
		$\sum f = 1000$	$\sum fx = 51\,390$	$\sum fx^2 = 2\,815\,550$

de la variabilidad de la altura en 1000 plantas. Según la altura las plantas están divididas en 11 clases con un intervalo de 10 cm.

La mayor cantidad de plantas (240) se encuentra en la clase donde la altura media es igual a 55 cm, o sea, se encuentra en el intervalo entre 50,0 y 59,9 cm. Esta clase que contiene la cantidad mayor de individuos estudiados, se denomina modal. Para sopesar las desviaciones obtenemos el producto de la miltiplicación fx y fx^2 y la suma de éstas $\sum xf$ y $\sum fx^2$. La altura media se designa como $\bar{x}$. Esta magnitud se calcula mediante la división de la magnitud $\sum fx$ por la cantidad general de plantas ($\sum f$):

$$\bar{x} = \frac{51\,390}{1000} = 51{,}39 \text{ cm}.$$

La representación gráfica de la distribución de las alturas de las plantas por medio de la serie variacional se expone en la

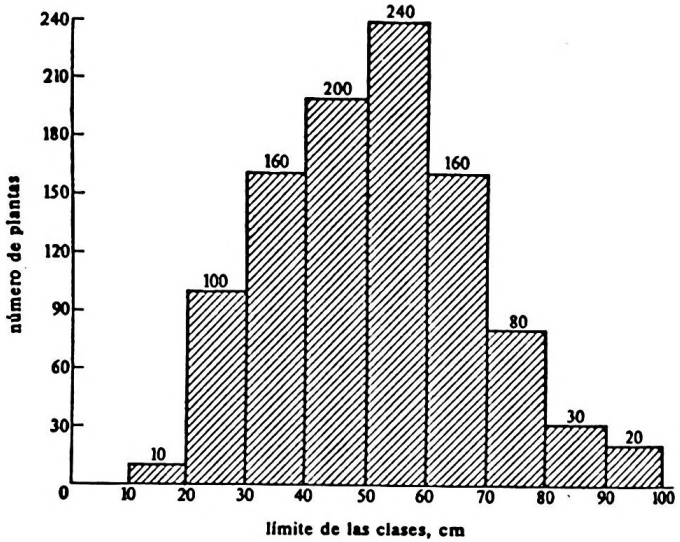


Fig. 94. Distribución de las alturas de las plantas según la serie variacional (según la tabla 9)

fig. 94. En este caso nos encontramos ante una distribución que se aproxima a la normal, que responde por la distribución de los términos del binomio de Newton. Sin embargo, la variabilidad alrededor de la media puede ser también otra. En la fig. 95 podemos observar que una población posee una amplitud menor de variabilidad en comparación con la otra.

La amplitud de la variabilidad y el carácter de la distribución de las variables alrededor de una media puede valorarse madiante la desviación estándar, que se simboliza por la letra σ. El cálculo de la desviación estándar se realiza por la fórmula:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum fx^2 - (\bar{x})^2 \sum f}{\sum f - 1}}.$$

Para valorar la desviación estándar de la media que en el presente caso es igual a 51,39 cm, el cálculo de la magnitud σ tendrá la siguiente forma:

$$\sigma = \sqrt{\frac{2\,815\,550 - (51.39^2 \times 1000)}{1000 - 1}} = \sqrt{\frac{174\,618}{999}} = \sqrt{174{,}80} = 13{,}3.$$

La distribución de las variables alrededor de la media entre los límites que se miden por la magnitud de la desviación estándar

tiene la forma siguiente:

$$x \pm 1\sigma \quad (68{,}0\%)$$
$$x \pm 2\sigma \quad (96{,}8\%)$$
$$x \pm 2{,}5\sigma \quad (99{,}0\%)$$
$$x \pm 3\sigma \quad (99{,}7\%).$$

De esta manera en los límites de 2σ se encuentra dispuesta la masa fundamental de la curva variacional y en los límites de 3σ se disponen prácticamente todas las variables de la curva.

El posible error que pueda surgir durante el cálculo de la media, se calcula mediante su error estándar ($\sigma\bar{x}$) por la fórmula:

$$\sigma\bar{x} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}.$$

En el trabajo de los seleccionadores y de los genetistas frecuentemente surge un serio obstáculo al elegir los ejemplares genotípicamente mejores en una variedad, una raza dada o en la

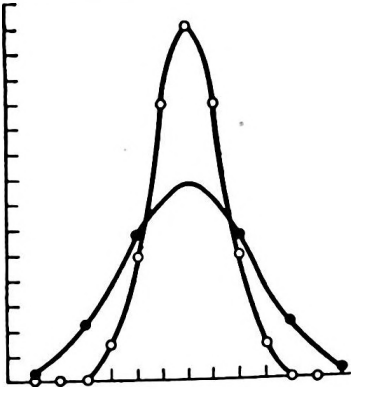


Fig. 95. Dos poblaciones con diferente amplitud de variabilidad

Por el eje de las abscisas se encuentra la magnitud del carácter y por el eje de las ordenadas, el numero de genotipos

mejor línea dentro de sus grupos. La causa de esto reside en que la variabilidad durante la transmisión de los caracteres cuantitativos es ininterrumpida y depende grandemente tanto del genotipo, como de la acción de las condiciones del medio externo. Estos últimos, al ser alteradas las particularidades del desarrollo, pueden ocultar los genotipos valiosos. Así, por ejemplo, para el caso expuesto anteriormente que presentaba la segregación para la cantidad de hileras de granos de maíz en las mazorcas, nos imaginemos, que las plantas que poseen genotipos $A_1A_1a_2a_2A_3A_3$ o $A_1a_1A_2a_2A_3A_3$, al encontrarse por casualidad en buenas condiciones, pudieron formar una cantidad de hileras en las mazorcas no menor que las plantas que tenían el genotipo $A_1A_1A_2A_2A_3A_3$ cuyo crecimiento transcurrió en condiciones normales. Naturalmente, en este caso la selección de las plantas mejores fenotípi-

camente conduce a la disminución del número medio de hileras de la mazorca en la descendencia. Surge la interrogante sobre el cálculo del valor relativo de la variabilidad que depende de la acción del medio ambiente determinado por la influencia de la diversidad genotípica.

La formación de una serie variacional cualquiera, ocurre por medio del cálculo de la variabilidad fenotípica. Es de gran importancia investigar la proporción que tiene la influencia del medio ambiente y la parte que corresponde a la variabilidad genotípica en la composición de esta variabilidad. Para caracterizar la variabilidad tiene una importancia principal la determinación de la magnitud de la varianza (σ^2), que es el cuadrado de la desviación estándar. La varianza general fenotípica (σ_p^2) puede calcularse por la fórmula:

$$\sigma_p^2 = \frac{\sum f^2}{n-1}$$

La diferencia entre varianza fenotípica y genotípica (σ_g^2) puede explicarse mediante un simple ejemplo. Si tenemos una línea pura en forma de grupos de individuos que representan la descendencia de una reproducción previa consanguínea larga o de un material clónico en forma de grupos de plantas obtenidas como resultado de la reproducción vegetativa de los organismos de un mismo origen, tendremos un genotipo parecido en todos los individuos dentro de la línea. Para este tipo de líneas la variabilidad será provocada fundamentalmente por la acción de los factores del medio ambiente. Por otro lado, para las poblaciones genéticas heterogéneas comunes, la variabilidad será provocada tanto por los factores del medio, como por la manifestación de la diversidad genética en las poblaciones. Es muy probable, que la diferencia de las variaciones entre estos dos tipos de poblaciones caracterizará al componente genético en la población que posea una diversidad genética. Así, si en una población I (línea pura), la varianza es igual a 0,4 y en una población heterogénea II ésta es igual a 0,6, por consiguiente la varianza genotípica en la población II es igual a 0,2. De esta manera, en una población heterogénea heredada, la variabilidad genotípica costituye un 33% de todo el volumen de la variabilidad y el componente de la acción del medio provoca un 67% de variabilidad.

La determinación del coeficiente de la heredabilidad, es uno de los elementos principales para prever hasta qué punto será exitosa la selección con respecto a un carácter específico en el trabajo práctico para el mejoramiento de las plantas o los animales.

INTERACCIÓN ENTRE GENES Y HERENCIA DE LOS CARACTERES CUANTITATIVOS. Al analizar la influencia de los sistemas de poligenes sobre el desarrollo de los caracteres cuantitativos, hasta el momento,

hemos tratado fundamentalmente la acción mutua entre genes en forma de un efecto cumulativo (aditivo) de factores unívocos. En este caso la variabilidad hereditaria se determina solamente por la cantidad de poligenes que actúan por el principio de la codominancia fuera de la dependencia de los fenómenos de la dominancia o la recesividad. Esta forma de determinación genética de los caracteres cuantitativos entra como un componente en el sistema general de los poligenes. La varianza que mide la variabilidad para los poligenes aditivos se denomina aditiva, σ^2_A.

El segundo componente de la varianza general genotípica es la variabilidad de los caracteres cuantitativos que transcurre basada en los poligenes dominantes. La varianza dominante se designa por σ^2_D. Al existir la varianza dominante, los híbridos no resultan intermedios entre ambos progenitores, sino más parecidos a uno de éstos. En el maíz pedregoso la varianza dominante determina el carácter de la herencia de la fertilidad, el diámetro de las mazorcas y la longitud de la envoltura de las hojas. A la vez, tales caracteres, como son la altura de las plantas y la longitud de las mazorcas, en su herencia se determinan por la varianza aditiva.

Diferentes formas de interacción de genes complementarios, supresores y de otros, también ejercen una influencia notable sobre la genética de los caracteres cuantitativos. En este caso tenemos una varianza no alélica σ^2_H.

En general, la varianza fenotípica tiene una composición compleja, ésta es igual a la suma de todas las formas de varianza genotípica y la del medio:

$$\sigma^2_P = \sigma^2_A + \sigma^2_D + \sigma^2_H + \sigma^2_E.$$

Un cuadro singular de la herencia tiene lugar en los caracteres cuantitativos de los volúmenes. En este caso nos encontramos ante un carácter dependiente de los índices de tres dimensiones (ancho, altura y longitud). Los poligenes determinan el aumento de estos carácteres por la progresión geométrica: 3, 9, 27, 81, etc. Cada uno actúa sobre un carácter lineal, por ejemplo, sobre la longitud, pero su efecto se halla incluido en el producto de los radios.

De esta forma, podemos observar que la herencia de la mayoría de las diferencias cuantitativas de los organismos está basada en la segregación mendeliana de complejos enteros de poligenes. Durante la segregación dentro de las poblaciones o familias surgen diferentes genotipos, lo que garantiza la presencia de fundamentos hereditarios para la diversa manifestación de un carácter dado. A la vez las desviaciones fenotípicas para las particularidades cuantitativas dependen en una gran medida de las condiciones del medio en el cual ocurrió el desarrollo del individuo. Como resultado, al analizar cualquier carácter cuantitativo nos encontramos con la interacción del genotipo y el

medio ambiente, hechos todo único. Solamente los experimentos de capacidad hereditaria de los componentes genotípicos pueden en un caso dado establecer el rol del factor genotípico. Es probable que para aquellos casos donde la manifestación de los carácteres no es modificada por la influencia del medio ambiente, lo que tiene lugar, por ejemplo, al investigar los grupos sanguíneos, tenemos solamente una variabilidad genotípica. Aquí la magnitud h^2 será igual a la unidad. En este caso si la variabilidad del carácter está condicionada sólo por la influencia del medio, la magnitud h^2 será nula. Si la manifestación del carácter dado se determina en el 50% por las diferencias en el genotipo, y en el 50% por la influencia del medio, h^2 será igual a 0,50 ó a un 50%.

La similitud genotípica de un grupo dado de organismos, si se conoce su origen, puede valorarse en su totalidad. Así, por cuanto cada uno de los descendientes de una pareja dada de individuos, recibe la mitad de los genes de cada uno de sus progenitores, su correlación genética con los padres es igual a 0,5. Los gemelos idénticos poseen genotipos similares y la correlación genética entre ellos equivale a 1. La proporción entre los hijos de una familia es igual a 0,5 y entre primos es de 0,25, etc. Al analizar la proporción y de las correlaciones fenotípicas y genotípicas en un grupo dado de organismos vivientes, el establecimiento de la magnitud de la herencia transcurre por la fórmula $h^2 = rp/rg$, donde rp es el coeficiente fenotípico y rg es el coeficiente de correlación genotípica. De esta manera, si el coeficiente de correlación según el tamaño de los huevos entre las gallinas cluecas que son hermanas completas es igual a 0,375, la magnitud de la herencia será igual a 0,75 (0,375/0,500).

Otro método está basado en el análisis del resultado de la selección. El conocimiento de las magnitudes de la herencia de un carácter es muy importante al elaborar las vías para su mejoramiento a través de la selección. La determinación, por este medio, del coeficiente de la herencia (h^2) para una serie de animales domésticos produce lo siguiente: en el ganado vacuno el peso al nacer se hereda en un 40—50%, en las ovejas el largo de la lana en un 25%, en los cerdos el peso corporal en un 30%, la capacidad lechera de las vacas en un 30%, etc.

La determinación de la porción hereditaria en la variabilidad fenotípica general representa una tarea importantísima. Esta recibió la denominación de heredabilidad (h^2), cuya magnitud se determina por la fórmula:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2}.$$

En la composición de la varianza fenotípica entran dos componentes, la genotípica (σ_G^2) y la del medio ambiente (σ_E^2).

 En el caso en que el desarrollo de un carácter se controla por un gene determinado que ofrece la posibilidad general de manifestar un carácter dado, podemos denominarlo gene principal. Aquellos factores poliméricos que modifican débilmente por separado la expresión del gene principal recibieron el nombre de genes modificadores. Sin embargo, estos últimos pueden tener una acción propria manifestando su efecto incluso en ausencia del gene principal. En este sentido el aspecto cualitativo de la acción de los genes modificadores y los principales es la misma, ya que tanto unos, como los otros, en un complejo o separados influyen en el desarrollo de un carácter dado.

Además, se ha descrito otro tipo de genes modificadores que se han denominado modificadores específicos. Estos pueden influir sobre el desarrollo de un carácter solamente en presencia del gene principal. Por cuanto los procesos de desarrollo transcurren sobre la base de una amplia interacción entre los genes es muy lógico, que cada gene además de ejercer su efecto propio actúe, en una u otra medida, como inespecífico o modificador específico de la acción de otros genes.

El concepto de genes modificadores concuerda en muchos sentidos con el de poligenes. Mather supone, que los poligenes se encuentran en los sistemas poligénicos dentro de los límites de algunos cromosomas o sus segmentos. Debido a la presencia de modificadores más (+) y menos (—) en cada cromosoma opositor se garantiza el equilibrio del sistema poligénico. En estas condiciones, la realización del entrecruzamiento puede ser la fuente de origen de una amplia variabilidad de los caracteres cuantitativos. Indicamos, que al analizar la herencia del peso del fruto en los tomates fue descubierta la acción de 40 poligenes, siendo su número total 12 cromosomas. En estas condiciones la segregación se desvía de las leyes de combinación libre de los genes. Algunos grupos de enlace pueden contener números de poligenes equilibrados.

En una serie de casos, el cuadro de la herencia polimérica se debe a la interacción de distintos miembros de una serie de alelos. Este se presenta en el ser humano por la herencia de la enzima colinesterasa. A raíz del empleo en la práctica médica del medicamento «suscametonia» se detectó un cuadro de amplia variabilidad entre las personas según su reacción al medicamento. La causa de ésta, es la existencia de diferentes poligenes de colinesterasa en distintas personas. Fue elaborado un método para suprimir la colinesterasa por medio de un inhibidor de dibucaína. El grado de supresión se expresa en tanto por ciento y se ha denominado número de dibucaína. Este número para la enzima común media es alrededor de 80 ± 2. Las investigaciones genéticas detalladas demostraron que la herencia del grado de actividad de la colineste-

rasa se determina por tres alelos y la combinación de los mismos. El alelo E^u determina la actividad común de la colinesterasa y el alelo A^a la actividad atípica disminuida. El alelo A^s es un alelo tácito, en el homocigoto no se forma ninguna enzima funcionalmente activa. Al estudiar la resistencia de la enzima al fluoruro se detectó la presencia de otro alelo más, E^f.

Como resultado de la unión de estos cuatro alelos sobre el fondo de la acción de los modificadores surge un cuadro ininterrumpido de variabilidad cuantitativa según el grado de actividad funcional de la enzima (tabla 10).

Tabla 10

Genotipos y variabilidad de la actividad de la enzima colinesterasa

Genotipo	Característica	Grado de inhibición		Actividad relativa
		con dibucaína	con fluoruro	
E^uE^u	Común	80	60	100
E^uE^f	»	75	50	85
E^uE^a	»	60	50	75
E^uE^s	»	80	60	70
E^fE^a	Resistente al fluoruro	50	30	60
E^fE^f	» »	65	30	55
E^aE^a	Atípico	20	20	50
E^fE^s	Resistente al fluoruro	65	30	30
E^aE^s	Atípico	20	20	25
E^sE^s	No existe	—	—	0

Otro ejemplo podría ser la variabilidad en las personas con respecto a la enzima deshidrogenasa de 6-fosfato de glucosa (D-6PG). La presencia de esta variabilidad se observó al aplicar el preparado antipalúdico sintético «promajín». Una serie de individuos se afectaron por hemólisis aguda cuya causa era la deficiencia de D-6PG.

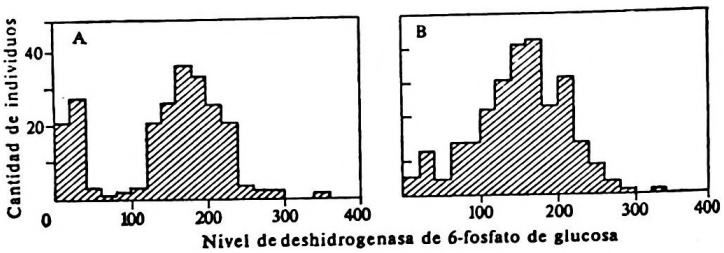


Fig. 96. Variabilidad con respecto a la actividad de la enzima deshidrogenasa de 6-fosfato de glucosa en los nigerianos

A—hombres (235 personas); *B*—mujeres (284 personas) (según Nance, 1967)

La investigación de las poblaciones demostró que existe una amplia variabilidad con respecto al grado de actividad de la enzima D-6PG (fig. 96). El análisis genético estableció que el locus del D-6PG está dispuesto en el cromosoma sexual humano. La variabilidad cuantitativa ininterrumpida para el grado de actividad del D-6PG se debe a la combinación de cuatro alelos $9d^B$, $9d^A$, $9d^A$ y $9d^M$. Quedó demostrado que la insuficiencia de D-6PG conlleva a la hemólisis, al inyectar en el ser humano no sólo promajín, sino también los sulfanilamidos (estreptocida blanca y otros), diferentes preparados antibacterianos, antipalúdicos y otros.

El significado del alelismo en la aparición de la variabilidad cuantitativa se ha establecido en la Genetica de las plantas, animales y microorganismos.

Preguntas para discutir

9-1. ¿Qué caracteres se denominan cuantitativos?

9-2. ¿Qué es la polimería o herencia poligénica?

9-3. Describa la herencia de las hileras de granos de maíz en las condiciones de la segregación trihíbrida, si cada uno de los seis alelos dominantes añade dos hileras de granos a las ocho fundamentales que se desarrollan sin estos seis genes poliméricos.

9-4. ¿Cuáles genes se denominan principales y qué son los genes modificadores?

9-5. ¿En qué consiste el fenómeno de la transgresión durante la segregación y en qué reside su importancia? ¿Qué es la transgresión positiva y negativa?

9-6. ¿Comó se calcula la media verdadera de una serie variacional?

9-7. Describa la distribución de las variables alrededor de una magnitud media, midiendo esta distribución valiéndose de la desviación estándar.

9-8. Cite la fórmula que permite determinar la autenticidad de la diferencia entre las medias de dos series variables.

9-9. ¿Qué es la varianza genotípica y fenotípica?

9-10. Dé una característica del concepto de heredabilidad.

9-11. ¿De qué se origina la varianza fenotípica?

9-12. ¿Qué número de clases de genotipos es característica de la segregación para tres y cinco parejas de genes poliméricos?

9-13. ¿En qué distribución de los genotipos iniciales en condiciones de segregación dihíbrida se observará el fenómeno de la transgresión?

9-14. Existe una variedad de cebada que produce 6 g de granos por planta y otra que produce 12 g. Si en la variedad de más alto rendimiento actúan tres parejas de genes poliméricos *AABBCC*, cada uno de los cuales en su acción es igual al otro, ¿cuál será el fenotipo de las plantas en F_1 del cruzamiento de estas variedades? ¿Cómo se distribuyen las plantas según la cosecha en F_2?

9-15. ¿Cuál será la distribución de las plantas con respecto a la cosecha, si los triheterocigotos de F_1, antes mencionados en la pregunta 9-14, se cruzan con una variedad de bajo rendimiento?

9-16. ¿Qué formas de interacción de genes tienen lugar en la transmisión de la herencia de los caracteres cuantitativos? ¿Qué simbolizan las varianzas σ^2_A; σ^2_D; σ^2_H y σ^2_E?

9-17. ¿En qué reside el valor de los genes modificadores en la herencia de los caracteres cuantitativos?

9-18. ¿Por qué el entrecruzamiento puede garantizar la aparición de una amplia variabilidad para los caracteres cuantitativos?

9-19. ¿De qué manera puede caracterizarse la teoría sobre los sistemas de poligenes?

9-20. Caracterice el significado y dé un ejemplo de herencia de los caracteres cuantitativos en la polimería por medio de la interacción de los miembros de una serie de alelos.

X Herencia de los caracteres ligatos al sexo

El análisis genético de los hechos de la transmisión de los caracteres ligados al sexo, conllevó al descubrimiento experimental del enlace de los genes con los cromosomas. En este fenómeno fue demostrado por primera vez con evidencia que los genes están localizados en los cromosomas del núcleo celular. De esta manera, el propio concepto de sexo de los organismos y los procesos de su transmisión obtuvieron una explicación inesperada a la luz del estudio sobre el papel de los cromosomas en los fenómenos hereditarios

DETERMINACIÓN CROMOSÓMICA DEL SEXO. El número diploide de cromosomas surge en la fecundación, cuando cada uno de los gametos fusionados lleva al cigoto su número haploide de cromosomas. Los números haploides concuerdan tanto entre sí que cada uno de los cromosomas del cigoto aparece contenido en una pareja formada por dos homólogos. En cada pareja un homólogo se obtiene a través del organismo materno y el otro, del paterno. Sin embargo, esta regla tiene sus excepciones. Una de éstas corresponde a las diferencias cromosómicas entre el sexo femenino y el masculino. En este caso, para uno de los sexos una pareja cromosómica, que se ha denominado sexual, generalmente detecta el heteromorfismo. Estas parejas heteromórficas contienen un cromosoma *X* de un gameto y un cromosoma *Y* del otro. A diferencia de éstos, los cromosomas restantes que son iguales en la hembra y el macho se representan por parejas y se denominan autosomas (*A*).

La investigación sobre la citología de las diferencias sexuales demostró que un sexo contiene dos cromosomas *X* idénticos y el otro, una pareja heteromórfica de cromosómas *XY*. El sexo que posee dos cromosomas sexuales idénticos (*XX*) ha recibido el nombre de homogamético, ya que produce gametos sólo de una

variedad. En este caso todos los gametos después de la reducción en la pareja de cromosomas *XX* poseen un cromosoma *X*. El sexo que contiene *XY* se llama heterogamético, ya que produce, en cantidades iguales, dos variedades de gametos, es decir, un 50% de éstos con cromosoma *Y* y con cromosoma *X*. El carácter de la relación heterogamética con el sexo masculino o femenino ocurre de distinta forma en las diferentes especies. Así, en un amplio grupo de organismos, la hembra posee una pareja de cromosomas sexuales en forma de cromosomas heteromórficos *XY*, y el macho, una de cromosomas idénticos *XX*. Esta situación es propia de las aves, mariposas, algunos peces y de otros organismos. En el ser humano, los mamíferos, insectos y en una serie de plantas se produce el cuadro contrario, es decir que el juego presentado por la pareja *XY* caracteriza a los machos, y el de cromosomas *XX* es propio de las hembras. En varias especies, el heteromorfismo en la pareja de cromosomas sexuales se expresa por la ausencia de cromosoma *Y*, en otras palabras, un sexo posee un número *XO*, y el otro, de *XX*. Este tupo de determinación del sexo recibe el nombre de *Protenor*, por haber sido detectada esta composición de los cromosomas sexuales en el insecto de dicho nombre. Y por último, en una serie de organismos, las formas diploides representan a las hembras y las haploides a los machos. Así, los cigotos de las abejas, de los cuales se desarrollan hembras poseen 32 cromosomas, y los de los machos solamente 16 cromosomas.

Al establecer el hecho de que los sexos se diferencian por la constitución de las parejas de cromosomas sexuales y sobre la base del conocimiento de la meiosis y la fecundación, la Genética esclareció el enigma de la determinación del sexo y a la vez el fenómeno sorprendente de que individuos de sexos opuestos nacen en un promedio de cantidades iguales. La base de este fenómeno constituye la reducción de los cromosomas durante la meiosis y el restablecimiento de la diploidía de los núcleos celulares mediante la fecundación. La relación del sexo con la constitución cromosómica se hace más evidente en aquellos casos, cuando la formación de esta última se garantiza únicamente por la meiosis. Esto tiene lugar en aquellas formas, donde el gametofito es diferenciado en sentido sexual y representa una fase integral en el ciclo biológico de las plantas.

En 1917 Allen al investigar los cromosomas en el musgo hepático *Sphaerocarpus*, descubrió por primera vez la existencia de cromosomas sexuales en las plantas. Las plantas de musgo son haploide con excepción de los esporangios en cuyas células diploides fueron hallados 16 cromosomas y entre ellos una pareja de cromosomas sexuales *X* y *Y*. Durante la meiosis la mitad de gametos tiene un número cromosómico igual a $7A + X$ y la otra mitad, de $7A + Y$ (fig. 97). Del primer tipo de gametos que tienen el cromosoma *X* se desarrollan plantas femeninas de

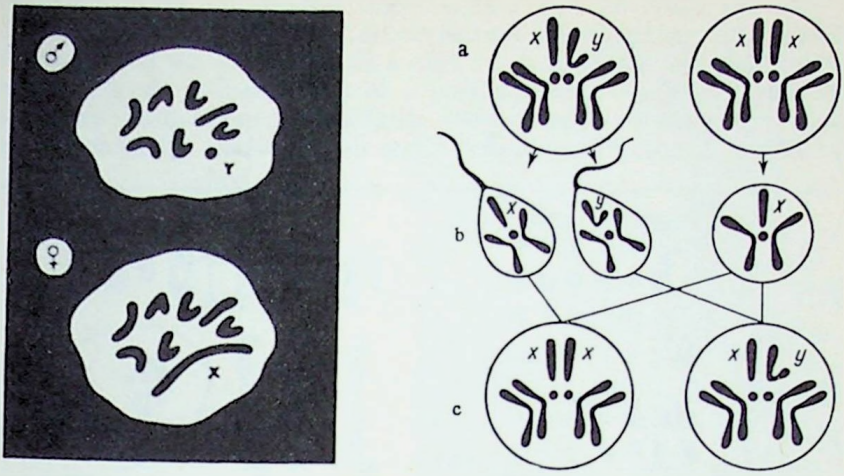


Fig. 97. Dotaciones de cromosomas en las plantas haploides masculinas y femeninas del musgo hepático *Sphaerocarpus*

♂—ocho cromosomas en la célula de la planta masculina, de los cuales siete son autosomas y uno es un cromosoma *Y* puntual; ♀—ocho cromosomas en la célula de la planta, emenina de los cuales siete son autosomas y uno es un cromosoma *X* largo (según Allen)

Fig. 98. Mecanismo de la determinación del sexo cuando existe heterocigosis masculina (*XY*) y homocigosis femenina (*XX*) en *Drosophila*

a—a la izquierda—espermatogonios diploides, a la derecha—ovogonias diploides; *b*—a la izquierda—dos variedades de espermatozoides, de los cuales la mitad porta un cromosoma *X* y la otra un cromosoma *Y*, a la derecha están los óvulos que contienen un 100% de cromosomas *X*; *c*—cigotos que surgen como resultado de la fecundación de los espermatozoides y los óvulos presentados en la segunda generación; a la izquierda—se representa un 50% de cigotos que forman hembras (*XX*), a la derecha—un 50% de cigotos que producen machos (*XY*)

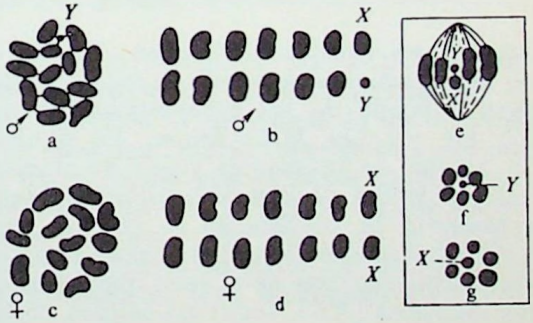


Fig. 99. Cromosomas sexuales en la chinche *Lygaeus*

a—dotación de cromosomas del macho, se observa el pequeño cromosoma *Y*; *b*—el mismo juego en forma lineal, existe una pareja de cromosomas sexuales (*XY*); *c*—dotación de cromosomas de la hembra; *d*—la misma dispuesta linealmente, está presente una pareja de cromosomas sexuales (*XX*); *e*—la primera división meiótica en el macho, se observa una divergencia de los cromosomas *X* e *Y* hacia los polos opuestos; *f*—50% de los espermatozoides portadores de un cromosoma *Y*; g—50% de espermatozoides portadores de un cromosoma *X*. Al encontrarse con los óvulos que portan en su 100% cromosomas *X* se origina un 50% de machos y un 50% de hembras (por E. Wilson)

musgo, y del segundo, con el cromosoma *Y*, masculinas.

En los casos en que ambos sexos poseen ya un número de cromosomas no haploide, sino diploide, el mecanismo de determinación del sexo está ligado no sólo a la reducción de los cromosomas en la meiosis, sino también a la combinación de diferentes clases de gametos que poseen distintos cromosomas sexuales durante la fecundación. Ambos tipos de gametos, aparecen en la

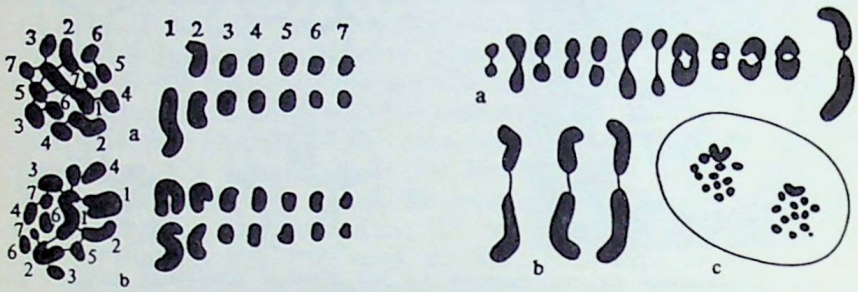


Fig. 100. Cromosomas sexuales en la chinche *Protenor*

a—13 cromosomas del macho, a la derecha—el mismo juego alineado del macho, se observa el cromosoma *X* (*1*), no existe el segundo cromosoma sexual. Macho del tipo *XO*; *b*—14 cromosomas de la hembra, a la derecha—el mismo juego en forma lineal, existen dos cromosomas *X* (*1*). Hembra del tipo *XX* (por E. Wilson)

Fig. 101. Cromosomas sexuales en la meiosis en la planta masculina *Melandrium album*

a—metafase de la primera división meiótica, todos los 12 cromosomas se separan, a la derecha se encuentra una pareja de cromosomas sexuales grandes, el de arriba es un cromosoma *X* (menor en tamaño); *b*—tres ejemplos de meiosis en la pareja de cromosomas sexuales (de tres células distintas) que indican que en este caso hay un cromosoma *Y* (abajo) menor que el cromosoma *X* (arriba); c—metafase de la segunda división meiótica (con menor aumento), a la izquierda hay 11 autosomas + cromosoma *Y* y a la derecha, 11 autosomas + cromosoma *X*

meiosis en cantidades iguales. En las figs. 98-100 se muestra el mecanismo para aquellos casos cuando la diferenciación del sexo depende de los cromosomas sexuales de los machos *XY*. En las plantas *Melandrium*, los individuos femeninos poseen 11 parejas de autosomas y una de cromosomas *X*, y las masculinas, en forma de 22*A* y los cromosomas *XY*. En la fig. 101, se representa la meiosis en la planta masculina de *Melandrium*, a consecuencia de la cual se forman gametos: 11*A* + *X* y 11*A* + *Y*. Naturalmente, que en el sexo que posee dos cromosomas *X* sexuales idénticos (*XX*), todas las células portarán un número haploide de autosomas y un cromosoma *X* sexual. Tenemos el ejemplo, en *Melandrium* cuando el cromosoma *Y* por su dimensión supera el cromosoma *X*.

Todo lo expuesto demustra, que el sexo de los organismos vivientes es un carácter mendeliano que se hereda según el prin-

Fig. 102. T. H. Morgan (1866—1945)

cipio de cruzamiento retrógrado (analítico). El sexo heterogamético (*XY*) que se cruza con un homocigoto recesivo, representado en este caso por el sexo homogamético (*XX*), resulta ser heterocigoto. Como resultado, detectamos en la Naturaleza una diferenciación hereditaria de los organismos en sexos masculino y femenino y la conservación estable de la igualdad cuantitativa de estos últimos en todas las generaciones.

HERENCIA DE LOS GENES LIGADOS A LOS CROMOSOMAS SEXUALES. Al analizar el curso de la herencia de una multitud de caracteres de los organismos, resultó que algunos de ellos son transmitidos de una manera peculiar de padres a hijos, detectándose una evidente dependencia del sexo. Estos caracteres no se limitan a alguno de los sexos, sino que pueden encontrarse en ambos. Sin embargo, el proceso de la transmisión hereditaria de éstos se halla en dependencia de si los individuos corresponden al sexo homogamético (*XX*) o heterogamético (*XY*).

Al estudiar la herencia de los caracteres ligados al sexo T. H. Morgan estableció la existencia de la asociación entre determinados genes y los cromosomas sexuales en la *Drosophila* echando con este descubrimiento los cimientos para la creación de la teoría cromosómica de la herencia. En la *Drosophila* común

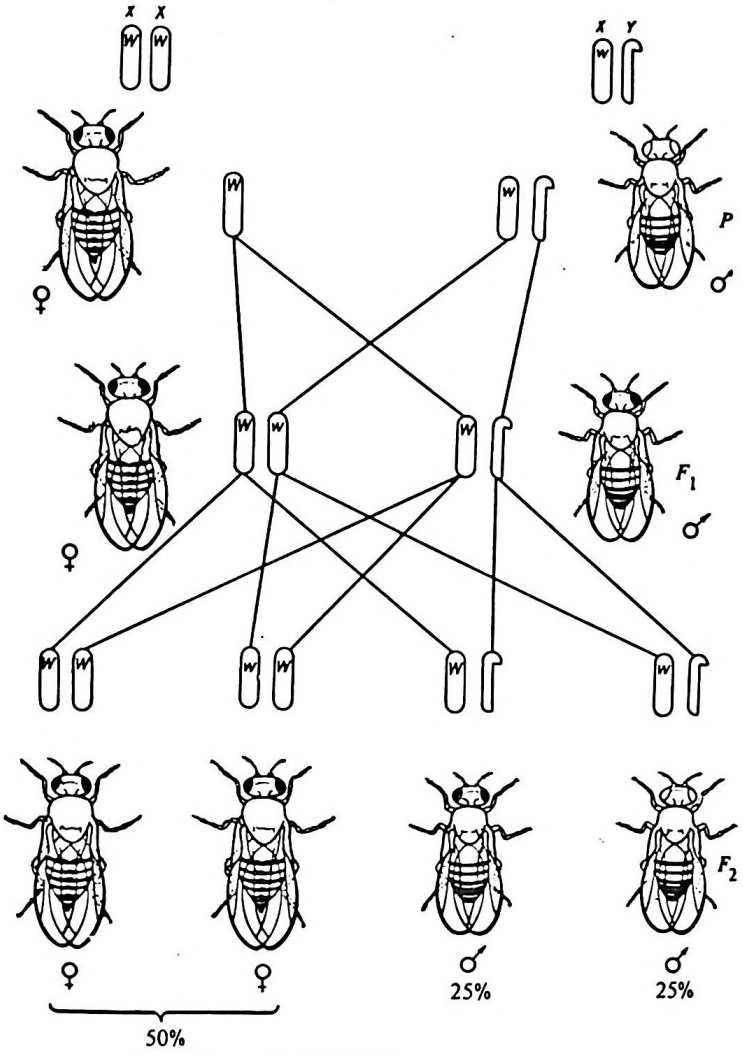


Fig. 103. Herencia de una pareja de alelos ligados al sexo + ojos rojos (W) y ojos blancos (w), con la particularidad de que el carácter recesivo procede del macho heterogamético inicial (en el ejemplo de la *Drosophila*)

El cruzamiento de una hembra (arriba a la izquierda) homocigótica para el alelo dominante de ojos rojos (W) con un macho (arriba a la derecha) portador del alelo recesivo de ojos blancos (w) conlleva a que en F_1 se forma la primera generación uniforme, donde domina el alelo para el color de los ojos rojos. En F_2 en lugar de la segregación mendeliana común 3 : 1 (sin relación con el sexo) se produce la siguiente: todas las hembras tienen los ojos rojos, la mitad de los machos tienen los ojos rojos y la otra mitad, blancos

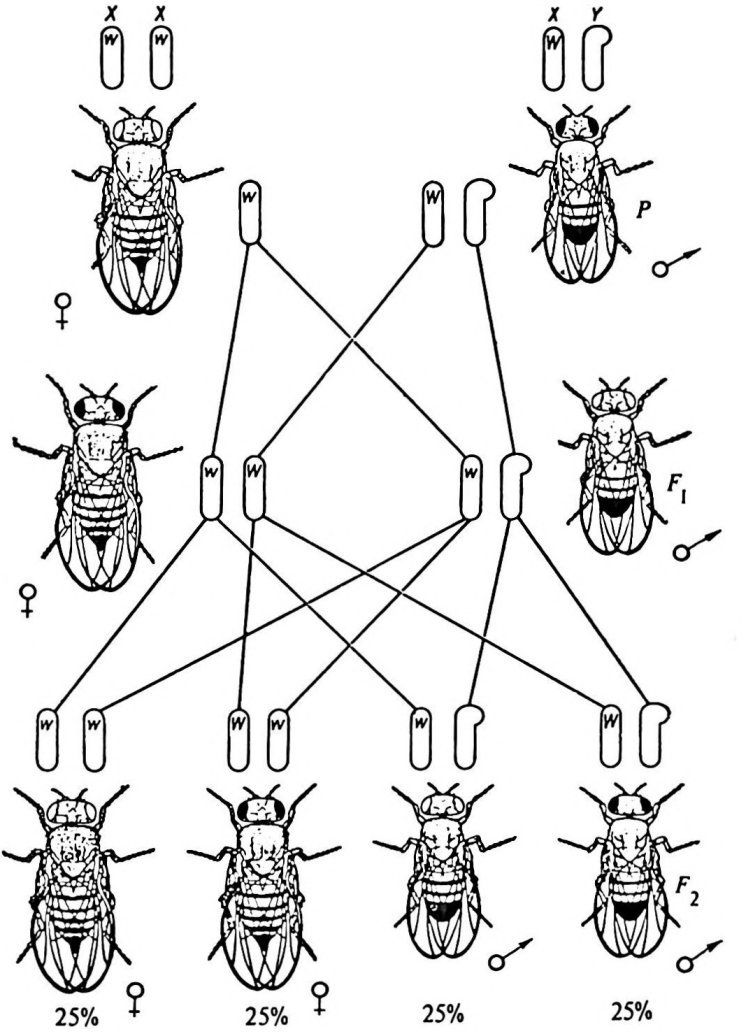


Fig. 104. Herencia de un par de alelos ligados al sexo, ojos rojos (*W*) y ojos blancos (*w*), en condiciones de que el carácter dominante proviene del macho heterogamético inicial (en el ejemplo de la *Drosophila*)

Cruzamiento de una hembra (arriba a la izquierda) homocigótica para el alelo recesivo de ojos blancos (*w*), con un macho (arriba a la derecha) portador del alelo dominante de los ojos rojos (*W*). En F_1 se produce una herencia cruzada: las hijas reciben el carácter del padre (ojos rojos) y los hijos los caracteres de la madre (ojos blancos). En F_2, de acuerdo con el curso de la herencia de los cromosomas sexuales, la mitad de las hijas tienen los ojos blancos y la otra mitad, rojos; la mitad de los machos tiene ojos rojos y la otra mitad, blancos

cuyos ojos poseen un pigmento rojo oscuro, T. H. Morgan detectó la mutación de los ojos blancos.

Los experimentos de cruzamiento de este mutante con individuos normales proporcionaron resultados inesperados. Si un macho de ojos blancos se cruza con una hembra normal de ojos rojos (fig. 103), en la primera generación (F_1) aparecen solamente moscas con ojos rojos (hembras y machos). En la segunda generación (F_2), todas las hembras resultaron nuevamente de ojos rojos y los machos se dividieron en dos categorías: una mitad F_2 tuvo los ojos rojos y la otra, blancos, manifestando de esta manera las particularidades del abuelo. Si observamos el curso de la transmisión hereditaria de estos caracteres, prestando atención a la herencia de los cromosomas sexuales, podemos determinar el completo paralelismo que existe en ambas series de sucesos (véase fig. 103). Sin embargo, en este análisis es necesario considerar que el gene de los ojos blancos (w) se encuentra localizado en el cromosoma X y que el Y no posee alelo de este gene.

Analicemos el caso del cruzamiento retrógrado, cuando en calidad de progenitores se toman una hembra de *Drosophila* de ojos blancos y un macho de ojos rojos (fig. 104). En este caso, ya en la primera generación (F_1) todos los machos heredan el color de los ojos de la madre (blancos) y todas las hijas reciben el color del padre (rojos). Es evidente, que los machos al obtener su único cromosoma X a través de la madre, no pueden tener ojos rojos. Se comprende también, por qué las hembras de la primera generación tendrán los ojos rojos: éstas obtuvieron un cromosoma X a través de la madre (ojos blancos) y el otro del padre (ojos rojos) y siendo heterocigóticas (Ww) debido a la dominancia del gene W, poseen ojos de color rojo. Presenciamos un cuadro de la denominada herencia cruzada, cuando las hijas obtienen caracteres del padre y los hijos, de la madre. La segunda generación confirma por completo la hipótesis acerca de la localización del gene W en el cromosoma X. En ésta una mitad de las hijas posee ojos blancos, y la otra, siendo heterocigóticas, tiene ojos rojos oscuros, lo que también concierne a los machos. Esta distribución de los caracteres en F_2 responde completamente al curso de la transmisión hereditaria de los cromosomas sexuales.

El mismo cuadro de herencia ligada al sexo se detecta en las especies en que las hembras pertenecen al sexo heterocigótico. En éstas también se ha determinado una relación directa entre el proceso hereditario y la homogamia y heterogamia, con la particularidad de que la distribución de los caracteres, según si está ligado al sexo masculino o femenino, presenta un cuadro inverso. La fig. 105 representa el cruzamiento entre gallinas y gallos que se diferencian por el color, siendo negros (carácter recesivo) o grises (carácter dominante). El esquema del cruzamiento en principio corresponde por completo al cuadro de la herencia de los ojos blancos en la *Drosophila*. La diferencia está

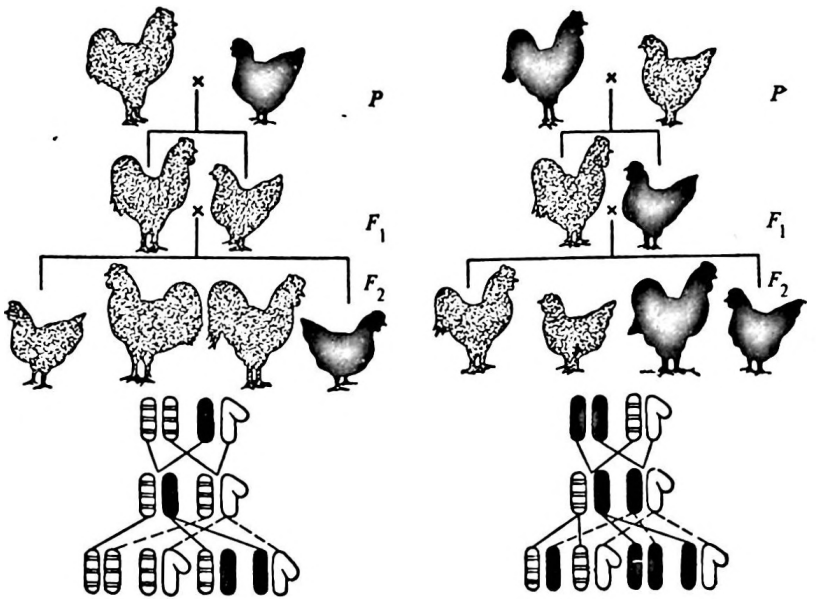


Fig. 105. Herencia de un par de alelos, plumaje gris (dominante) y el plumaje negro (recesivo)

A la izquierda se observa el cruzamiento, donde el carácter proviene de la hembra heterogamética inicial. En F_1 toda la descendencia tiene color gris dominante. En F_2 aparece 1/4 de individuos negros que resultan hembras. A la derecha—del sexo heterogamético (gallina) proviene el carácter del color gris. En F_1 se presenta el cuadro de la herencia cruzada, los gallos adquieren los caracteres maternos y las gallinas, los paternos. En F_2 la mitad de los gallos son grises y la otra, negros, lo mismo concierne a las gallinas. En ambos casos los caracteres se transmiten paralelamente, en sentido riguroso, a la herencia de los cromosomas

condicionada por el hecho de que en el último caso existe una correlación inversa entre los sexos homogaméticos y heterogaméticos en comparación con la *Drosophila*. Las gallinas (hembras) poseen cromosomas sexuales *XY* y los gallos *XX*.

Con posterioridad fueron dadas pruebas evidentes para la *Drosophila* de que los genes que se heredan ligados al sexo, están físicamente localizados en los cromosomas sexuales. Por ejemplo, en una de las líneas de *Drosophila* hallada por L. Morgan el carácter de los ojos blancos en lugar de la herencia común, que debería transmitirse ligado al sexo, lo hacía limitándose a un solo sexo, es decir, se heredaba exclusivamente por los individuos masculinos, sin transmitirse a las hembras. La investigación microscópica de cromosomas demostró que dos cromosomas *X* femeninas físicamente se unieron mediante sus extremos formando en lugar de dos elementos bastonados, una figura única en forma de *Y*.

El símbolo que designa a estos cromosomas X fusionados es $\widehat{XX}$. En este caso dos cromosomas X ya no pudieron despegarse uno del otro y separarse en la meiosis. Cuando apareció esta mutación los dos cromosomas X ligados se hallaron en el mismo gameto. Este gameto fue fecundado por el espermatozoide con cromosomas Y, por eso, en la línea de las X ligadas todas las hembras tienen la estructura $\widehat{XX}Y$. Este cromosoma Y adicional sirve de pareja durante la sinapsis con los cromosomas X fusionados. Esta clase de hembras produce dos variedades de gametos; 50% de $\widehat{XX}$ y un 50% con cromosomas Y.

El análisis de la herencia cromosómica en este y en otros casos en la *Drosophila* demostró que la presencia de cromosomas Y en ella no determina el desarrollo del sexo masculino. En lo que se refiere a los cromosomas sexuales, en este caso la cantidad de cromosomas X es determinante. En la presencia de los dos cromosomas X (XX) se desarrolla una hembra, y de un solo cromosoma X, un macho. Con relación al cromosoma Y, éste puede encontrarse tanto en el macho, como en la hembra, sin alterar los caracteres sexuales del individuo, sin embargo, no está genéticamente vacío al tener una serie de genes, este cromosoma influye en el desarrollo del individuo, en particular el macho con cromosoma X, que carece de cromosoma Y, resulta estéril.

El carácter de la variación física de los cromosomas que aparece al unirse los cromosomas X, determina el mecanismo poco común de la herencia de los caracteres. Esto claramente se deduce del análisis de los procesos de meiosis y fecundación en la línea con cromosomas X unidos (fig. 106). La hembra $\widehat{XX}Y$ produce cuatro categorías de descendientes, al formar gametos $\widehat{XX}$ y Y al encontrarse con los gametos del macho normal (X y Y). La primera de éstas son las superhembras, que poseen tres cromosomas X ($\widehat{XX}X$) y que generalmente mueren. La segunda está compuesta por las hembras que han recibido los cromosomas X unidos a través de la madre y los cromosomas Y a través del padre ($\widehat{XX}Y$). En la tercera se forman cigotos que se hayan desprovistos de cromosomas X, pero que poseen dos cromosomas Y (YY), éstos mueren en la fase del huevo fecundado. A la última categoría pertenecen los machos que han recibido su cromosoma X a través del padre y el cromosoma Y a través de la madre (XY).

Se entiende perfectamente que en este curso de la transmisión de los cromosomas, todos los genes que se encuentran localizados en los cromosomas X unidos se transmiten a través de un número ilimitado de generaciones por la línea de la hembra, y todos los genes que se hayan localizados en un cromosoma X aislado lo

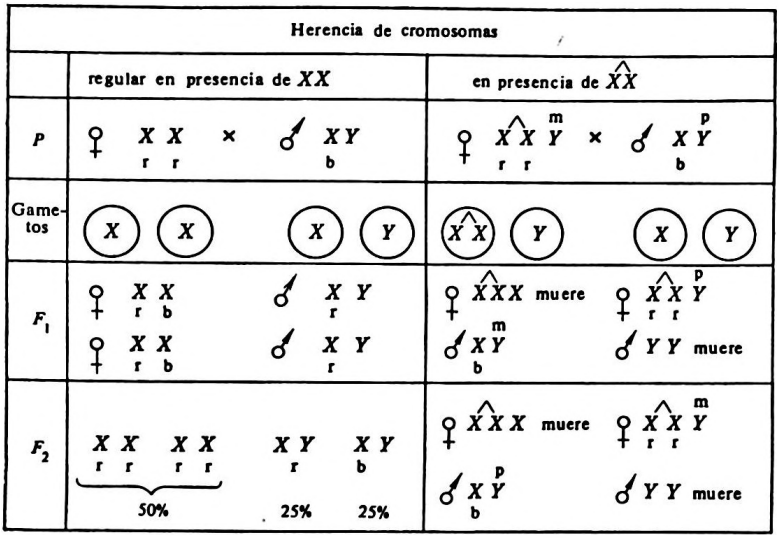
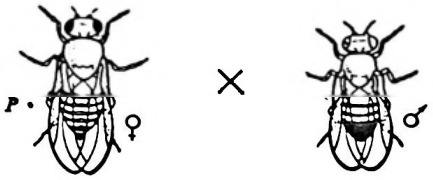


Fig. 106. Curso de la herencia de los cromosomas *X* e *Y* durante la transmisión común y en la línea que posee cromosomas *X* unidos

En el último de los casos las hijas reciben ambos cromosomas *X* de la madre, y los hijos obtienen su cromosoma *X* del padre. En cada generación el cromosoma *X* se transmite de un sexo a otro. De la madre (Y^m) pasa a los hijos y luego a los nietos. Por correspondencia, del padre (Y^p) se transmite a las hijas y de éstas a las nietas, *r*—ojos rojos, carácter dominante; *b*—ojos blancos, carácter recesivo

hagan solamente por la línea de los machos (fig. 107). En la línea de los cromosomas *X* unidos el curso de la herencia de los cromosomas *X* y *Y* resultó alterado radicalmente. Con frecuencia el macho obtiene su cromosoma *X* de la madre y el cromosoma *Y* del padre. En la línea $\widehat{XX}$ resulta todo lo contrario. El macho recibe su cromosoma *X* del padre y el cromosoma *Y* de la madre. Lo mismo ocurre a las hembras, que comúnmente obtienen un cromosoma *X* del padre y el segundo de la madre. En la línea $\widehat{XX}$, las hembras reciben ambos cromosomas *X* a través de la madre. Del padre éstas obtienen un cromosoma *X* que en realidad no es propio de una hembra normal. Resulta de este modo que también el curso de la herencia de todos los alelos ligados al sexo en la línea $\widehat{XX}$ se halla alterado radicalmente.

El análisis de la herencia de los alelos ligados al sexo en relación con la variación estructural establecida en el cromosoma *X* fue uno de los casos más brillantes de la demostración



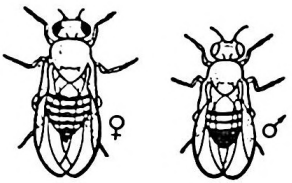
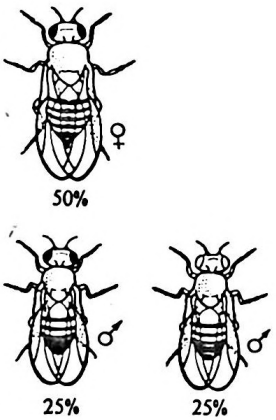
	herencia común	herencia en la línea de cromosomas X fusionados
F_1	todos tienen los ojos rojos (hembras y machos)	 50% 50%
F_2	 50% 25% 25%	repetición todas las hembras tienen ojos rojos todos los machos tienen ojos blancos

Fig. 107. Comparación entre la transmisión normal de un par de alelos ligados al sexo y la herencia de la línea de los cromosomas *X* unidos. En el último caso los caracteres paternos se transmiten a través de los hijos y los maternos a través de las hijas

de que los genes se hallan físicamente localizados en los cromosomas.

Actualmente existen todas las pruebas necesarias de la justeza de la teoría cromosómica de la herencia.

CARACTERES LIGADOS AL SEXO EN EL SER HUMANO. La herencia de los genes ligados a los cromosomas sexuales está representada ampliamente en diferentes tipos de organismos. En el hombre, alrededor de 60 genes se heredan con relación a los cromosomas *X*, entre ellos la hemofilia, la ceguera para los colores (daltonismo), la distrofia muscular, etc.

La presencia de cromosomas *XX* idénticos en las mujeres y una pareja de cromosomas sexuales heteromórficos *XY* en los hombres, garantiza que nazcan un promedio de 50% de varones y 50% de niñas. Además de esto, es obvio que si algún gene se halla localizado en el cromosoma *Y*, éste puede transmitirse solamente por la línea masculina (fig. 108). Existe poca cantidad de estos genes. Sin embargo, fue establecido que los caracteres del hombre «mono», se transmiten solamente a los varones. Lo mismo se ha establecido para algunos casos de sindactilia que se manifiesta en forma de la sínfisis membranosa del II y III dedos en el pie. La hipertricosis del pabellón de la oreja (filas de pelos) está ligada a un gene que se encuentra localizado en el cromosoma *Y*. En una familia, estudiada en el transcurso de cinco generaciones, este carácter se transmitió solamente por la línea masculina.

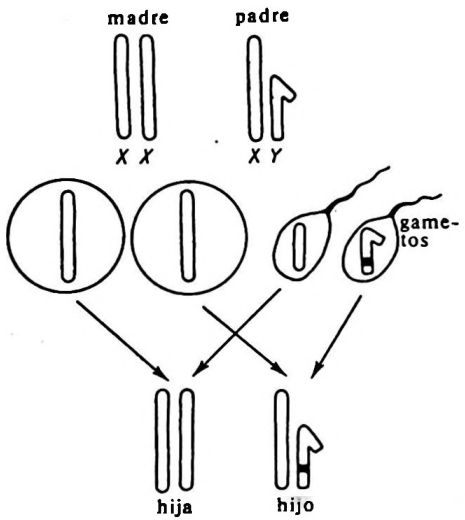


Fig. 108. Herencia del cromosoma *Y* que se transmite únicamente a través de la línea masculina

Es obvio que los genes localizados en el cromosoma *Y* manifiestan una herencia limitada ligada al sexo masculino

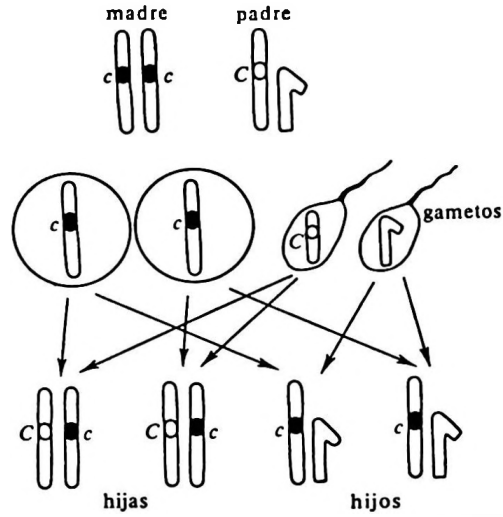


Fig. 109. Herencia de la ceguera para los colores en el ser humano. La madre padece la enfermedad (*cc*), y el padre es sano (*C*)

Gracias a que el gene se encuentra localizado en el cromosoma *X*, la transmisión sigue el curso por el cual todos los hijos resultan afectados por el daltonismo, y todas las hijas heterocigóticas son normales

El cromosoma *Y* se transmite del padre al hijo pero nunca a las hijas. Un caso contrario se presenta en el cromosoma *X* que regularmente se transmite de un sexo al otro.

Son conocidas alteraciones de la visión para los colores, la llamada ceguera para los colores. En la base del origen de estos defectos visuales reside la acción de una serie de genes. La ceguera para el rojo-verde comúnmente se denomina daltonismo. Mucho antes de que surgiera la Genética, a fines del siglo XVIII y en el XIX, fue establecido, que la ceguera para los colores se hereda conforme a leyes regulares. Así, si una mujer que padece de ceguera para los colores contrae matrimonio con un hombre de visión normal, en sus hijos se observará un cuadro muy peculiar de herencia cruzada. Todas las hijas de esta pareja recibirán el carácter del padre, o sea, tendrán la visión normal, pero todos los hijos al recibir el carácter de la madre padecerán de ceguera para los colores (fig. 109). En el caso cuando por el contrario el padre es el daltónico y la madre tiene la visión normal, el cuadro cambia bruscamente. Todos los hijos de ese matrimonio tienen la visión normal. En algunos casos aislados, donde la madre y el padre poseen la visión normal, la mitad de los hijos puede resultar afectada por la ceguera para los colores. En geneneral la difusión de la ceguera para los colores dentro de una población es diferente para los hombres que para las mujeres. En los Estados Unidos en 8% de los hombres presenta insuficiencia de la visión para los colores, y entre las mujeres está afectado solamente un 0,5%.

La fig. 109 muestra el porqué en un matrimonio entre una mujer afectada de ceguera para los colores y un hombre normal,

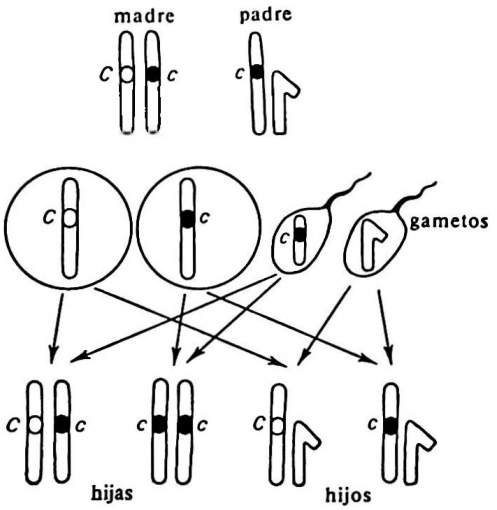


Fig. 110. Herencia del daltonismo en el caso en que la madre es heterocigótica, y el padre se halla enfermo

La mitad de las hijas y la mitad de los hijos padecen del daltonismo

todos los hijos resultan daltónicos y las hijas con visión normal. Los hijos se dotan del cromosoma *X* solamente de la madre. Las hijas siendo heterocigóticas, recibieron un cromosoma *X* paterno y otro materno, teniendo toda visión normal, ya que el gene del daltonismo es recesivo. Si una hija de esta familia contrae a su vez matrimonio con un daltónico, al igual que sucedió con su madre, entonces esta pareja tendrá la mitad de las hijas con visión normal y la otra sufrirá daltonismo, esta misma segregación podrá observarse en los hijos (fig. 110).

Sin embargo, si una de estas mujeres heterocigóticas contrajera matrimonio con un hombre de visión normal, todas sus hijas tendrán la visión normal y la mitad de los hijos serán daltónicos (fig. 111). Por último, es muy lógico que en el matrimonio de una mujer homocigótica normal con un hombre daltónico, todos los varones nacerán normales, sin embargo, todas las hijas se convertirán en portadoras encubiertas del daltonismo transmitiéndolo a las generaciones posteriores (fig. 112).

Otro ejemplo de herencia ligada al sexo lo constituye el gene recesivo semiletal que provoca la falta de coagulación de la sangre cuando ésta se expone al aire y que recibe el nombre de hemofilia. Esta enfermedad aparece casi exclusivamente en los varones. En los enfermos de hemofilia, incluso una pequeña herida en la piel puede producir una hemorragia fatal. Por regla general los hijos que padecen de hemofilia, aparecen en matrimonios donde la madre y el padre son normales. El portador de la enfermedad en estos casos es la madre, heterocigótica para el gene recesivo de la hemofilia. El curso de la herencia en este caso

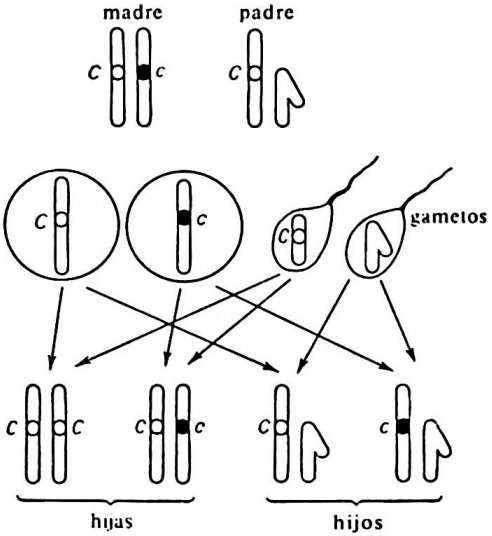


Fig. 111. Herencia del alelo del daltonismo en el caso en que la madre es heterocigótica y el padre posee el alelo de la visión normal

La mitad de los hijos son daltonianos

es completamente similar a la transmisión de la ceguera para los colores representada en las figs. 109—112.

Si los hombres enfermos de hemofilia alcanzan la madurez sexual y contraen matrimonio, todas sus hijas serán heterocigóticas para el gene de la hemofilia y posteriormente transmitirán este gene a la mitad de sus hijos. En el estado homocigótico en las

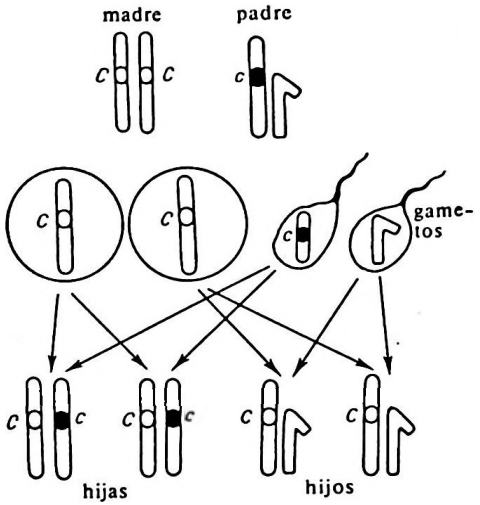


Fig. 112. Transmisión del alelo del daltonismo en el caso en que la madre es normal y el padre padece la ceguera para los colores

Toda la descendencia es normal, sin embargo, las hijas son portadoras del daltonismo en estado heterocigótico

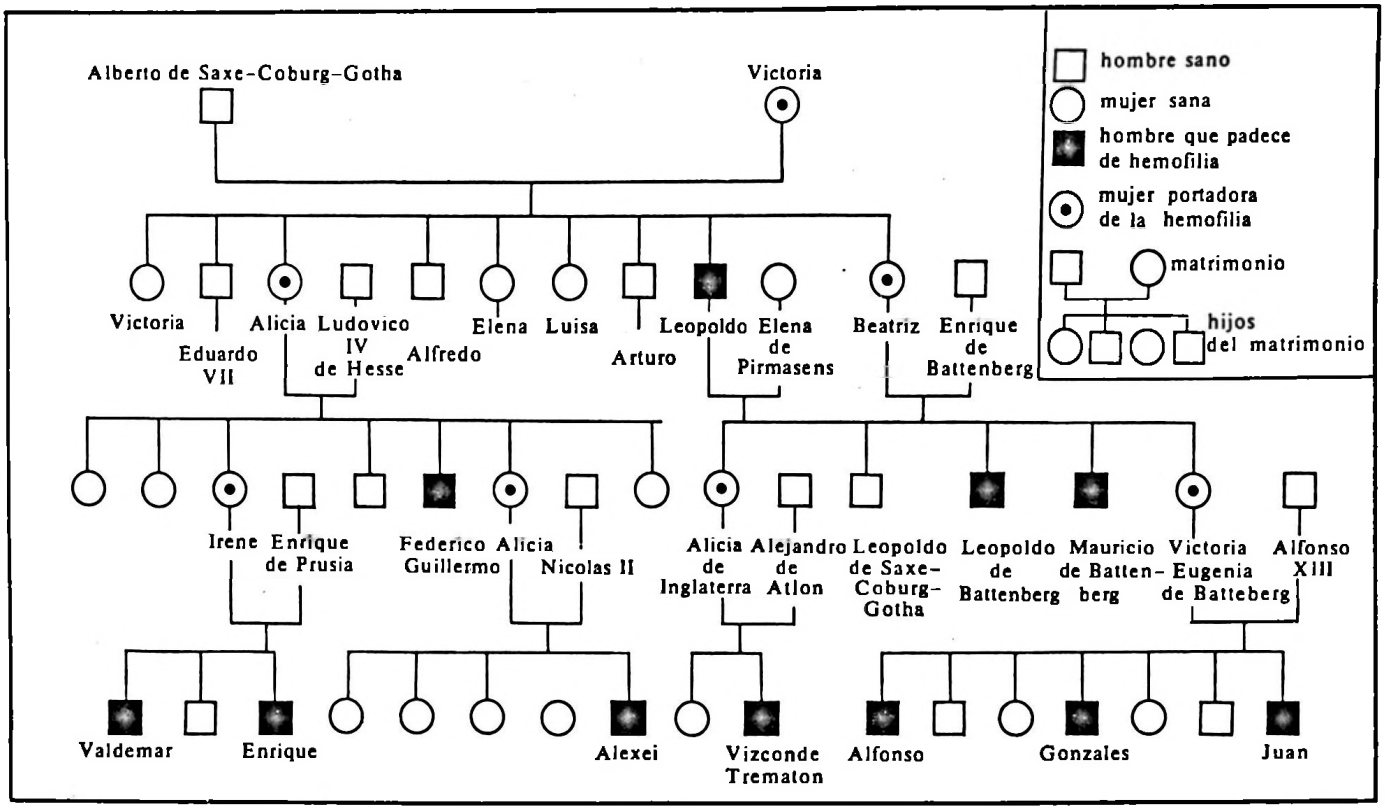


Fig. 113. Arbol genealógico de las familias reales de Europa que ilustra la transmisión del gene de la hemofilia localizado en el cromosoma *X* humano

Al alelo es semiletal lo que conlleva, por regla general, a la muerte de los varones en la edad temprana

mujeres, al parecer, el gene de la hemofilia es letal. En los matrimonios, citados en la literatura, donde una esposa era heterocigótica y el esposo hemofílico (similar al daltonismo, fig. 110), todas las hijas fueron normales. De esta forma la hemofilia transmitida a través de las mujeres aparece en la mitad de sus hijos. Un caso conocido de este tipo de herencia es la genealogía que abarcó a algunas familias reales en Europa, descendientes de la reina Victoria de Inglaterra. Ella era heterocigótica para el gene de la hemofilia y lo «repartió» entre muchos hombres en una serie de familias reales (fig. 113). Entre los herederos de esta enfermedad congénita, debido a que la ascendiente era la reina

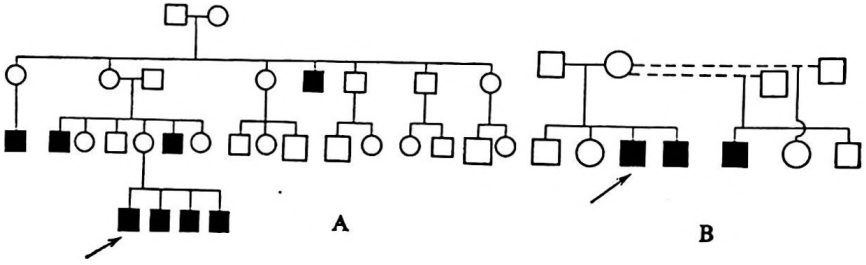


Fig. 114. Herencia del alelo recesivo de la distrofia muscular de Duchenn cuyo alelo está localizado en el cromosoma *X*

A—genealogía en tres generaciones, donde la distrofia muscular se manifiesta sólo en los hombres (cuadrados negros); B—genealogía combinada; se muestra el origen de tres niños enfermos de la misma madre, pero de dos padres diferentes (según Stevenson)

Victoria, heterocigótica para el gene subletal de la hemofilia, vemos al príncipe heredero ruso Alexei, hijo del último zar de Rusia Nikolai II. Su madre la ex zarina Alexandra Fiódorovna (Alicia, fig. 113), recibió el gene de la hemofilia a través de su abuela la reina Victoria y lo transmitió en la cuarta generación al ex heredero del trono zarista. De hemofilia murieron tres infantes españoles (Alfonso, González y Juán), hijos del rey Alfonso XIII, que recibieron el alelo de la hemofilia de Victoria Eugenia de Buttenberg y otros (fig. 113).

Uno de los genes recesivos ligados al sexo provoca un tipo singular de distrofia muscular (tipo Duchenne). Esta distrofia aparece en la infancia temprana y paulatinamente conlleva a la invalidez y la muerte antes de los 20 años. Por eso los hombres con distrofia de Duchenne no tienen descendientes. Las mujeres heterocigóticas para el gene de esta enfermedad, son completamente normales (fig. 114). Entre las mutaciones dominantes ligadas al cromosoma *X* puede indicarse el gene que provoca la insuficiencia de fósforo en la sangre. La presencia de este gene trae como resultado el desarrollo del raquitismo, resistente a la curación mediante dosis habituales de vitamina D. En este caso

el cuadro de la herencia ligada al sexo se diferencia notablemente del curso de la transmisión por generaciones que fue descrita para las enfermedades recesivas en el ejemplo de la ceguera para los colores y la hemofilia. Así, por ejemplo, en los matrimonios de nueve mujeres enfermas con hombres sanos, entre los hijos, la mitad de las niñas y la mitad de los varones heredaron el padecimiento. Aquí en correspondencia con el carácter de la herencia del gene dominante, en el cromosoma *X* ocurrió una segregación en una proporción de 1 : 1 : 1 : 1, o sea, entre las niñas hubo un 50% de enfermas y 50% de sanas y entre los varones, un 50% de afectados y un 50% de sanos.

Otro ejemplo de gene dominante localizado en el cromosoma *X* del ser humano, es el gene que provoca el defecto de los dientes que conlleva al oscurecimiento del esmalte.

Preguntas para discutir

10-1. ¿En qué residen las particularidades de los cromosomas sexuales?

10-2. Explique los principios de la heterogamia y homogamia de los sexos. ¿Cuál es la correlación de los tipos cromosómicos *XX* y *XY* con los sexos masculino y femenino en diferentes grupos de organismos?

10-3. ¿Cómo puede determinarse el sexo mediante los cromosomas sexuales, y de qué forma se mantiene en la Naturaleza en cada generación la igualdad cuantitativa del sexo masculino y femenino?

10-4. Describa los principios generales de la herencia de un carácter ligado al sexo.

10-5. ¿Cuál es la causa de la herencia ligada al sexo?

10-6. ¿Cuál será el genotipo de la hembra de *Drosophila* que produce en la descendencia la mitad de los machos de ojos blancos y la otra de ojos rojos?

10-7. ¿Qué es la herencia cruzada?

10-8. Reproduzca el curso del cruzamiento si se conoce que en la segunda generación se obtuvo un 25% de hembras de ojos rojos, un 25% de hembras de ojos blancos, un 25% de machos de ojos blancos y un 25% de machos de ojos rojos. Haga lo mismo en el caso cuando en F_2 se observó la segregación de un 25% de individuos de ojos blancos siendo todos machos.

10-9. ¿Por qué el caso de los cromosomas *X* fusionados en la *Drosophila* da pruebas evidentes de la idea sobre la localización de los genes en el cromosoma?

10-10. Describa el curso de la transmisión del cromosoma *Y* por tres generaciones de la línea de *Drosophilas* con cromosomas *XX* unidos.

10-11. ¿Cuáles caracteres cuya herencia se encuentra ligada al sexo en el ser humano conoce usted?

10-12. ¿Cómo quedó establecido que el gene que determina el carácter del hombre «mono» se transmite ligado al cromosoma *Y*?

10-13. Indique el genotipo de la mujer la mitad de cuyos hijos padecen de ceguera para los colores.

10-14. ¿Por qué no existen mujeres que padecen de hemofilia?

10-15. Reproduzca la ascendencia de los padres y de sus progenitores de acuerdo con los datos en que en una generación estudiada 1/4 de las hijas padecían la ceguera para los colores, 1/4 eran sanas, 1/4 de los hijos la padecían y 1/4 eran sanos.

10-16. ¿Cuál será el genotipo de los progenitores, si dentro de su descendencia todas las hijas son sanas y todos los hijos padecen de la ceguera para los colores?

10-17. ¿En qué caso, será portadora de la ceguera para los colores la mitad de las hijas si todos los hijos son sanos? ¿Cuál será el genotipo de sus hermanas?

XI

Organización genética de los cromosomas. Entrecruzamiento como mecanismo de recombinatión en los grupos de enlace en los organismos superiores

El estudio genético de cualquier especie animal o vegetal demuestra la presencia de miles y decenas de miles de genes en ellos. Sin embargo, es bien conocido que la cantidad de parejas de cromosomas de cada especie es relativamente pequeña. En el maíz se han estudiado más de 500 genes, pero el número de cromosomas es de 10 parejas. En *Drosophila* se conocen más de 1000 genes, mas el número cromosómico de *Drosophila melanogaster* es igual a 4 parejas. En el ser humano existen más de 2000 genes, no obstante, el número de cromosomas es de 23 pares, etc. Si los genes están localizados dentro de los cromosomas, entonces cada pareja de cromosomas deberá constar de una dotación de genes. Evidentemente, los genes localizados en un cromosoma deben formar grupo de enlace (*linkage*), infringiendo de esta forma el principio mendeliano de la transmisión independiente de las parejas de genes.

ANÁLISIS GENÉTICO DEL ENLACE INCOMPLETO. Los trabajos experimentales comenzados por T. J. Morgan en 1910 fundamentaron, demostraron y desarrollaron profundamente estas tesis. Se descubrió la existencia de grupos de enlaces de genes relacionados con determinados cromosomas. Además se demostró, que el enlace de genes no es absoluto dentro de los límitos de los cromosomas. Los genes que se encuentran en diferentes segmentos de los cromosomas homólogos, pueden separarse y ligarse unos con otros, recombinándose dentro de la pareja de homólogos. El estudio detallado de estos procesos permitió aclarar cuáles son los fundamentos de la organización genética de los cromosomas.

La causa del enlace incompleto es el entrecruzamiento, fenómeno que citológicamente fue descubierto por F. Janssens en 1909. Al estudiar la meiosis en la espermatogénesis de los anfi-

bios, Janssens descubrió que después de la conjugación del par de homólogos, éstos, al separarse, en una serie de puntos forman figuras que se parecen a la letra griega ji (χ). Es por ello que este fenómeno se ha nombrado quiasmatipia. Basándose en las observaciones de Janssens y tratando de explicar sus datos con relación al *linkage* incompleto en *Drosophila*, Morgan planteó como hipótesis que al formar los quiasmas los cromosomas homólogos intercambian entre sí segmentos portadores de bloques de genes.

Analicemos el fenómeno del enlace incompleto de los genes en el ejemplo del maíz, en el cual es posible observar directamente en las mazorcas la segregación para diferentes caracteres de los granos y calcular las distintas agrupaciones de éstas.

Fue realizado el cruzamiento entre una variedad de maíz, en la que los granos de las mazorcas estaban llenos (*C*) y tenían una capa aleurónica coloreada (*A*) y plantas de una variedad de semillas rugosas (*c*) con la capa aleurónica incolora (*a*). En la primera generación, producto de este cruzamiento, aparecieron plantas en las cuales las mazorcas tenían granos con caracteres dominantes, o sea, eran redondos y coloreados (*CA*).

Si tuviésemos un simple caso de transmisión independiente mendeliana, de dos pares de alelos, en la segunda generación, al realizarse el retrocruzamiento (*CcAa* × *ccaa*), hubiésemos obtenido el 25% de *CcAa*, 25% de *ccAa* y 25% de *ccaa*.

Sin embargo, en la realidad, en lugar de la igualdad de 4 clases de descendientes, dominan las combinaciones de caracteres que poseían las plantas paternas, o sea, se manifiesta un cuadro de herencia enlazada de los genes. Los granos, que muestran el enlace de los genes, es decir, los granos redondos y coloreados (*CA*), que recibieron los genes originados de uno de los padres y los granos rugosos e incoloros (*ca*), cuyos genes procedieron del otro progenitor representaron un 96,4%. Sin embargo, a pesar de ello el *linkage* resultó incompleto. Un 3,6% de los granos de la segunda generación presentó combinaciones de los caracteres paternos iniciales. Enlace incompleto de los genes en el maíz en %:

Coloreados		Incoloros		Total
llenos	rugosos	llenos	rugosos	
CaAa	*Ccaa*	*ccAa*	*ccaa*	
4032	149	152	4035	8,368
48,2	1,8	1,8	48,2	100,0

El entrecruzamiento que se observó en los individuos de la primera generación fue la causa del enlace incompleto (fig. 115).

Cuando el cruzamiento analizado fue realizado con el híbrido (*CcAa* × *ccaa*), aunque éste, fue obtenido de progenitores con otra combinación inicial de caracteres (*ccAA* × *CCaa*), su herencia de nuevo satisfizo el cuadro de enlace y entrecruzamiento en presencia de aproximadamente la misma cantidad de recombina-

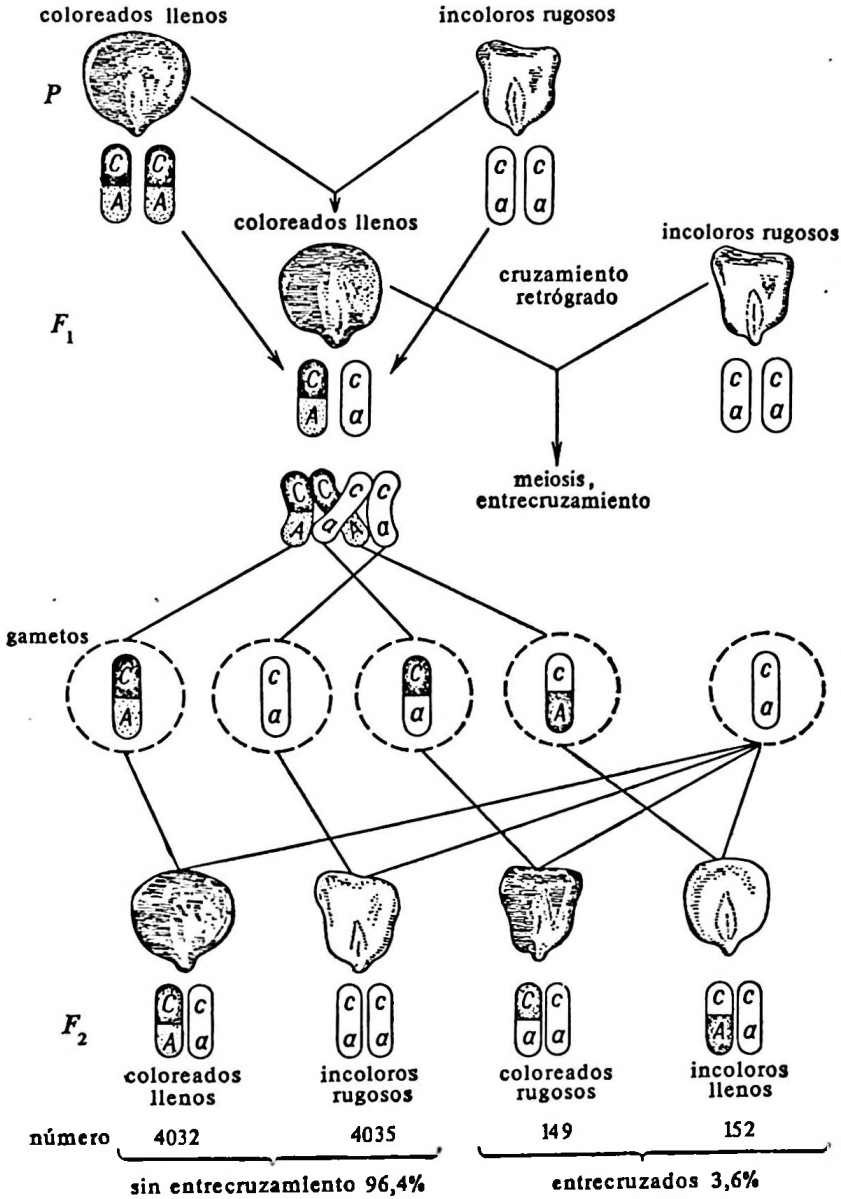


Fig. 115. Entrecruzamiento simple en el par de cromosomas homólogos que explica el cuadro de la ligazón (*linkage*) incompleta en el ejemplo de la herencia en el maíz de los alelos para los granos llenos y rugosos y de capas aleuró-nicas coloreada (pigmentada) o incolora

ciones de las propiedades paternas. No obstante, en este caso la clase de la herencia enlazada y la clase de los granos entrecruzados intercambiaron sus posiciones.

Enlace incompleto en la maíz con la combinación inversa de los genes en los progenitores presentado en %:

Coloreados		Incoloros		Total
llenos	rugosos	llenos	rugosos	
CcAa	*Ccaa*	*ccAa*	*ccaa*	
638	21 379	21 906	672	44 595
1,43	47,94	49,12	1,51	100,0

En este caso, las combinaciones iniciales de caracteres paternos, en virtud del enlace, aparecieron en la descendencia en un 97,06% y en los granos entrecruzados constituyeron el 2,94%.

Los datos obtenidos demuestran que el entrecruzamiento no tiene lugar en todos los ovocitos, teniendo relación, solamente, con parte de ellos. En la mayoría de las cromáticas se mantienen las combinaciones originales de genes. Para distintos genes la frecuencia de intercambio es diferente. Esto demuestra que la determinación de la frecuencia del entrecruzamiento, presentado como un proceso de recombinación, tiene gran significación. El conocimiento de esta frecuencia permite pronosticar la correlación de los distintos genotipos en la herencia de los genes localizados dentro de un determinado grupo de enlace.

El hecho de que la frecuencia de las recombinaciones no dependa de las combinaciones génicas iniciales de los progenitores, demuestra que esta frecuencia se determina por la distancia entre los genes en el cromosoma. Para los genes *C* y *A* puede decirse que la separación de uno al otro es del 3% de entrecruzamiento. De esta forma se determinan las distancias entre los genes en el mapa genético de cromosomas donde las distancias son magnitudes relativas, medidas por la frecuencia del entrecruzamiento. Es evidente que al aumentar la distancia física entre los genes, se acrecienta el porcentaje de entrecruzamiento. Esta relación se cumple mientras la distancia entre los genes alcance el 50%. En este caso tendrá lugar la combinación casual entre las parejas de alelos, la cual no se diferencia de la herencia de parejas de alelos procedentes de distintos cromosomas. Como veremos posteriormente, esta circunstancia no pone obstáculos en la confección del mapa genético de cromosomas a grandes distancias para grupos de genes, pero debe tenerse en cuenta al analizar dos parejas de alelos.

DEMOSTRACIONES CITOLÓGICAS DEL ENTRECRUZAMIENTO. El fenómeno de la variabilidad combinatoria (recombinación de genes) tiene una enorme significación para la evolución y selección. El surgimiento de las

recombinaciones está determinado por dos causas: una de ellas es la combinatoria de genes de distintos cromosomas y la otra es la combinatoria surgida a partir del entrecruzamiento. Es necesario reconocer la primordial significación de las recombinaciones de genes a través de la transformación genética de la composición de genes en los grupos de enlace, o sea, por medio del entrecruzamiento.

En *Drosophila* hay 4 pares de cromosomas. Esto demuestra que la combinación de distintos cromosomas en su conjunto solamente puede garantizar la segregación tetrahibrídica. Al mismo tiempo, unos cuantos miles de sus genes se combinan por entrecruzamiento. Lo mismo es aplicable al hombre y a los demás organismos vivientes. El número de pares de cromosomas se mide por unas cuantas unidades o decenas de éstas, mientras que el número de genes se mide en decenas y cientos de miles, lo que muestra el enorme aporte del entrecruzamiento en el fenómeno de la variabilidad recombinatoria (combinatoria).

Para que la teoría cromosómica de la herencia alcanzara el éxito, era sumamente importante pasar de la genética del entrecruzamiento a su citología.

El análisis genético del entrecruzamiento posibilitó la construcción de un modelo abstracto. El estudio de los cromosomas tenía que conllevar al análisis del entrecruzamiento como un proceso físico. Las primeras pruebas citogenéticas directas de que en el entrecruzamiento se produce como un intercambio de segmentos físicos de cromosomas junto con los genes localizados en éstos, fueron presentadas en 1931 por H. B. Greighton y B. McClintock en el maíz y por C. Stern en *Drosophila*.

La tarea consistía en poder hacer el pronóstico del cambio de forma de los cromosomas y después, microscópicamente observar esta variación, basándose en el entrecruzamiento genético entre determinados genes. En condiciones normales el entrecruzamiento no deja ningún tipo de huellas que puedan cambiar la morfología del cromosoma. Esto está condicionado por el hecho de que dos cromosomas del par morfológicamente exactos, intercambian segmentos homólogos uno con el otro. Para establecer las consecuencias citológicas del entrecruzamiento fue necesario experimentalmente crear la heteromorfia en el par de cromosomas homólogos. Stern logró hacerlo para las parejas de cromosomas XX en *Drosophila*, utilizando la translocación de un cromosoma de este par por un cromosoma Y, y para el otro homólogo la translocación con el cuarto cromosoma (microcromosoma). En el primer caso obtuvo un cromosoma complejo, compuesto de casi todo el cuerpo del cromosoma X y de la mitad del cromosoma Y. Este cromosoma tenía una forma insólita que lo diferenciaba del cromosoma normal X y de otros cromosomas en *Drosophila* (fig. 116).

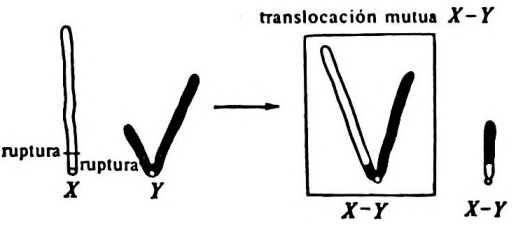


Fig. 116. Translocación mutua entre los cromosomas *X* e *Y*

Enmarcado se observa el cromosoma complejo *X* + *Y* utilizado por Stern en el experimento realizado para demostrar citológicamente el entrecruzamiento

Stern obtuvo otro componente en el par heteromórfico de cromosomas sexuales en *Drosophila* con ayuda de la translocación entre un cromosoma *X* y el cuarto cromosoma. Esta vez, la ruptura en el cromosoma *X* ocurrió en el centro, de modo que morfológicamente el cromosoma *X* se dividió en dos mitades, adquiriendo la forma bastonada (fig. 117). Ambos cromosomas en conjunto constituían el complejo cromosoma *X* + IV. La hembra inicial, en la cual se estudió el entrecruzamiento, era heterocigótica para ambas translocaciones ya descritas (fig. 118, arriba a la izq.). Además, en una de las mitades del cromosoma *X* roto fueron introducidos el gene recesivo *carnation* (*cr*—ojos de color pardo oscuro) y el gene dominante *Bar* (*B*—ojos estrechos). En el otro cromosoma *X* de la hembra inicial acoplado con un segmento del cromosoma *Y*, se encontraron los alelos normales de estos genes ($+^{cr}$, $+^{B}$). Esta hembra fue cruzada con un macho que poseía los genes *cr*, $+^{B}$ en el cromosoma *X*.

La hembra formó cuatro variedades de gametos: dos de gametos no entrecruzados (*cr*, *B* y $+^{cr}$, $+^{B}$) y dos como resultado del quiasma (*cr*, $+^{B}$ y $+^{cr}$, *B*). Al fecundarse estas cuatro clases de óvulos con los espermatozoides de un macho, en el cual el cromosoma *X* contenía genes *cr*, $+^{B}$, surgieron cuatro tipos de hembras, representadas en la fila inferior de la fig. 118. El surgimiento de hembras a partir de huevos que contenían cromosomas entrecruzados (hembras *3* y *4*), tuvo una significación decisiva.

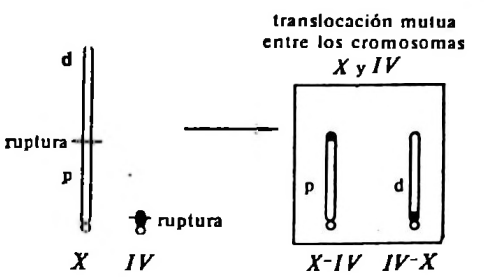


Fig. 117. Translocación mutua entre el cromosoma *X* y *IV* cromosoma

La ruptura del cromosoma *X* tuvo lugar en la zona media de éste. Se formaron 2 cromosomas en forma bastonada, los cuales fueron utilizados por Stern para la demostración citológica del entrecruzamiento: *d*—parte distal del cromosoma *X*; *p*—parte proximal

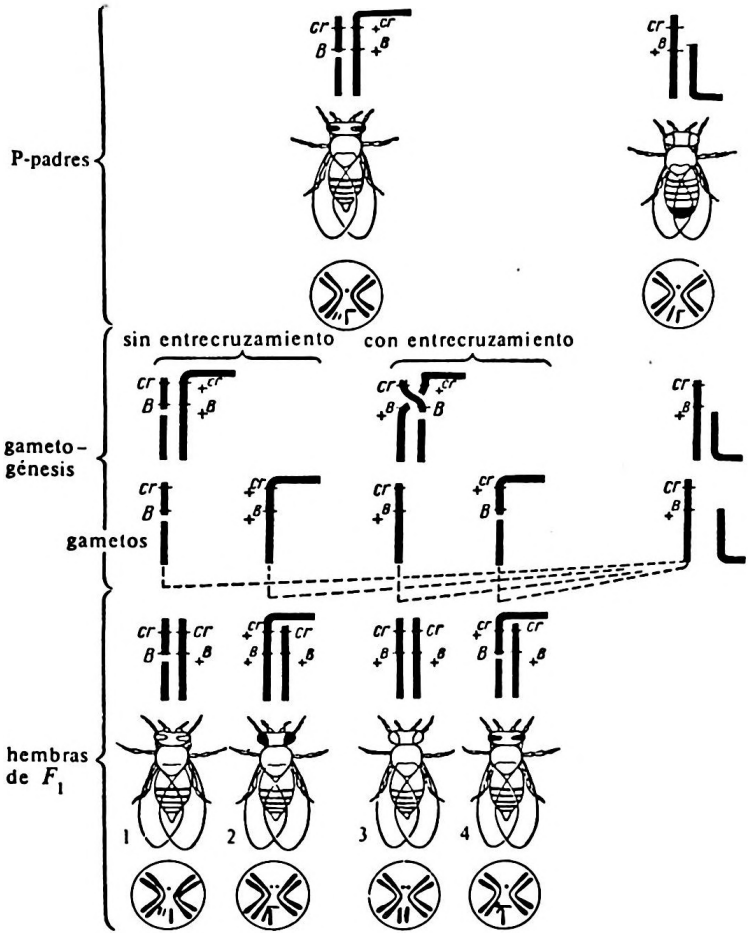


Fig. 118. Demostración citológica del entrecruzamiento en *Drosophila* mediante el estudio paralelo de la transmisión de la herencia de los caracteres y el comportamiento durante el entrecruzamiento de cromosomas *X* modificados con ayuda de dos translocaciones mutuas (según Stern)

La explicación se da en el texto

La primera de ellas tiene un cromosoma de la hembra que surgió producto del traslado de la parte derecha (inferior en la figura) del cromosoma $X + Y$ hacia la mitad superior del cromosoma *X* roto. Esto dio como resultado un cromosoma con los genes *cr*, $+^B$, completamente normal por su morfología. En el segundo caso (hembra *4*) el entrecruzamiento conllevó a la aparición de un cromosoma $+^{cr}$, *B*, que tenía una estructura completamente

nueva, representada por una mitad del cromosoma *X* con la parte del cromosoma *Y* acoplado a él.

Todo el experimento consistió en que en las moscas, para las cuales el hecho de entrecruzamiento se registró como puramente genético, se estudiaron posteriormente las dotaciones de sus cromosomas. En todos los casos, al producirse el entrecruzamiento genético, éste se acompañaba de los cambios previstos en la morfología de los cromosomas (véase las hembras *3* y *4* en la fig. 118).

PRUEBAS DE LA RELACIÓN FÍSICA DE DETERMINADOS GRUPOS DE ENLACE CON CROMOSOMAS ESPECIFÍCOS. Las investigaciones sobre la herencia de enlace de genes permitieron establecer que determinado grupo de genes enlazados está relacionado con determinado cromosoma. Por primera vez esta relación de los grupos de enlace con determinados cromosomas fue hallada en *Drosophila* para sus cuatro pares de cromosomas. Las primeras pruebas fueron obtenidas por Bridges en 1916 al estudiar el fenómeno de la no disyunción de los cromosomas sexuales. Habitualmente las hembras homocigóticas para el gene de los ojos brillantes (*vv*), al cruzarse con machos normales de ojos oscuros (*VV*) dan un F_1 en el que todas las hijas poseen el color dominante de los ojos (*V*). No obstante, como una excepción aproximadamente en una de cada 1500 hembras normales, surgía una excepción con carácter recesivo. Estas tenían ojos brillantes. El genotipo de estas hembras contenía dos alelos recesivos *vv*. ¿Cómo pudo surgir esto? Se expresó la hipótesis de que la causa de tal fenómeno podían ser alteraciones en la meiosis. En tales casos excepcionales, los cromosomas sexuales de la hembra inicial no se separan y forman un gameto con dos cromosomas *X* (*XX*). Si un óvulo semejante es fecundado por espermatozoide con un cromosoma *Y*, surgirán hembras con la estructura *XXY*. Estas hembras presentarán el carácter de los ojos brillantes, ya que serán homocigóticas para el gene recesivo (*vv*). Basándose en esta idea, se hizo el pronóstico de la estructura citológica de las hembras excepcionales con ojos brillantes. Si realmente estas hembras son el resultado de la no disyunción primaria de los cromosomas *X*, entonces estas hembras no deben tener los dos cromosomas habituales *X*, sino contener en sus células tres cromosomas sexuales (*XXY*). Un análisis directo en el microscopio corroboró este pronóstico. En la fig. 119 se muestra un ejemplo de la no desyunción de los cromosomas sexuales al estudiar la herencia del albinismo en *Drosophila*.

Posteriores investigaciones más detalladas conllevaron a establecer las relaciones entre todos los cuatro grupos genéticos de enlace con los cuatro pares de cromosomas en *Drosophila* y más tarde al descubrimiento de las secciones dentro de los cromosomas, en las cuales están localizados determinados genes.

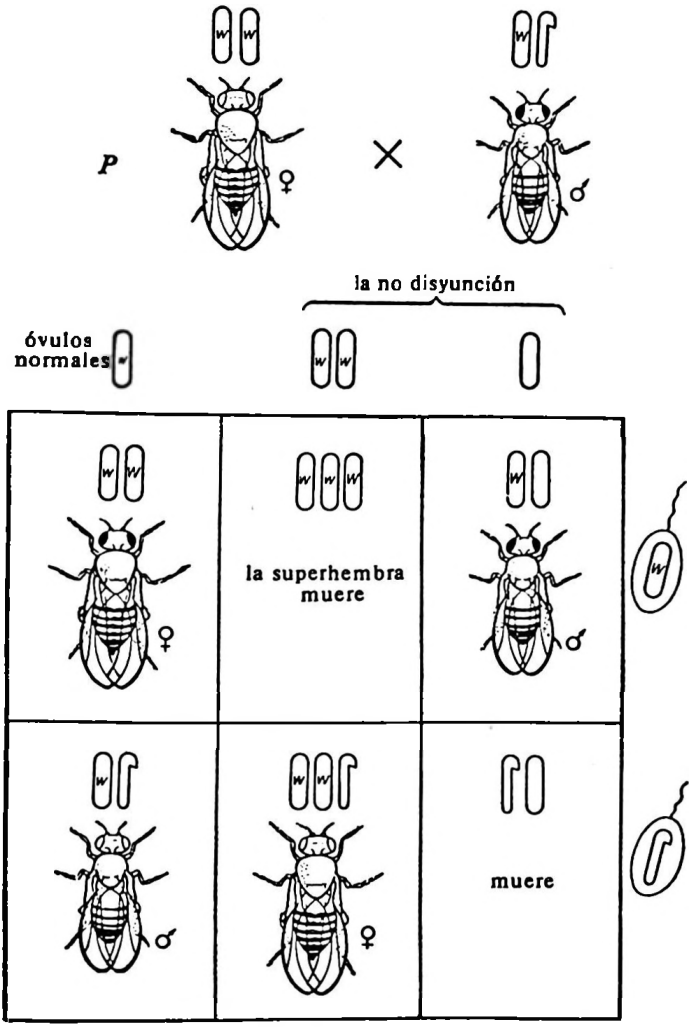


Fig. 119. No disyunción primaria de los cromosomas *X* en la hembra de *Drosophila* descubierta al cruzar hembras homocigóticas para el gene recesivo *white* (*w*), ojos blancos, con machos poseedores del alelo de los ojos oscuros normales (*W*)

Las hembras excepcionales (con la no disyunción) se reconocen por su homocigosis para el gene *white* (*ww*). Estas hembras portan los cromosomas *X* de la madre y el cromosoma *Y* del padre (*XXY*). Junto con ellas surgen machos excepcionales, que repiten los caracteres del padre (*W*) y poseedores de la estructura *XO*. Estos machos son estériles

DISPOSICIÓN LINEAL DE LOS GENES. Si determinados cromosomas son portadores físicos de grupos específicos de genes enlazados, cabe reconocer que en cada uno de estos grupos están concentrados cientos y miles de los más diversos genes. Surge la pregunta de ¿cómo está organizada esta masa de genes dentro del cromosoma? La respuesta fue obtenida mediante minuciosos experimentos al analizar el

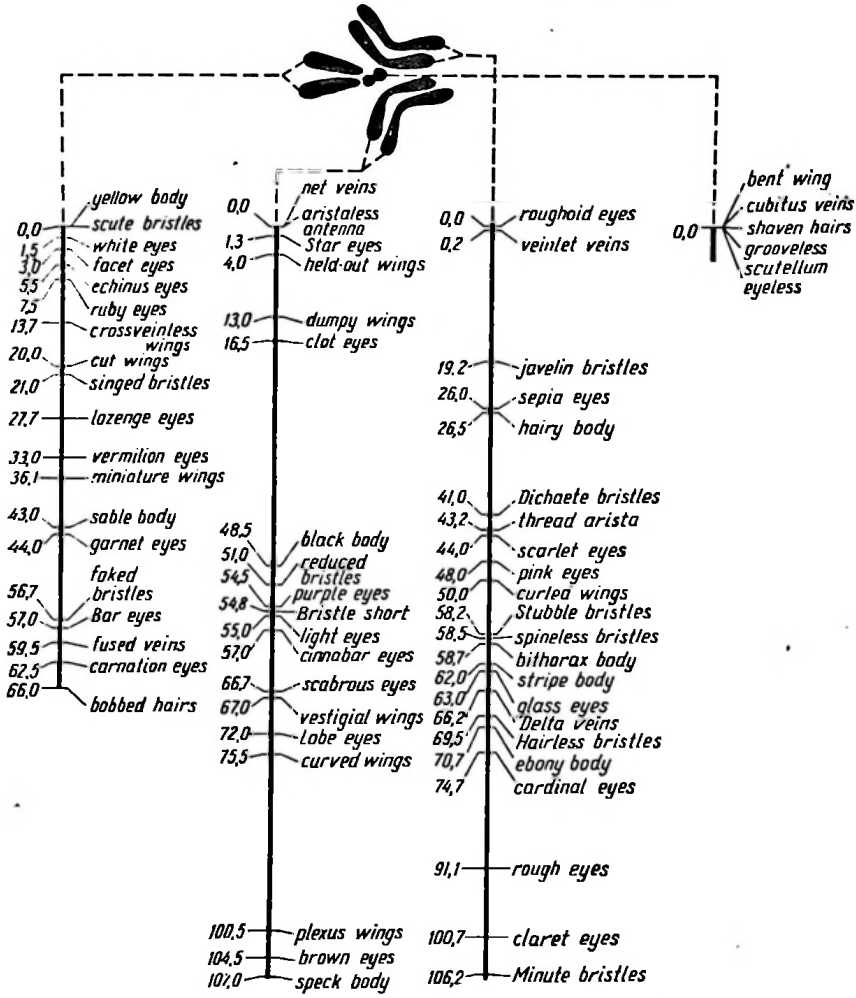


Fig. 120. Mapas genéticos de los cuatro cromosomas de *Drosophila*

A la izquierda se encuentra el cromosoma *X*, después siguen el segundo, tercero y cuarto cromosomas; *0*, *0* indican los extremos izquierdos de todos los cromosomas, a partir de los cuales se registra la distancia de cada uno de los genes. Las distancias están dadas en % de entrecruzamiento (*crossing-over*)

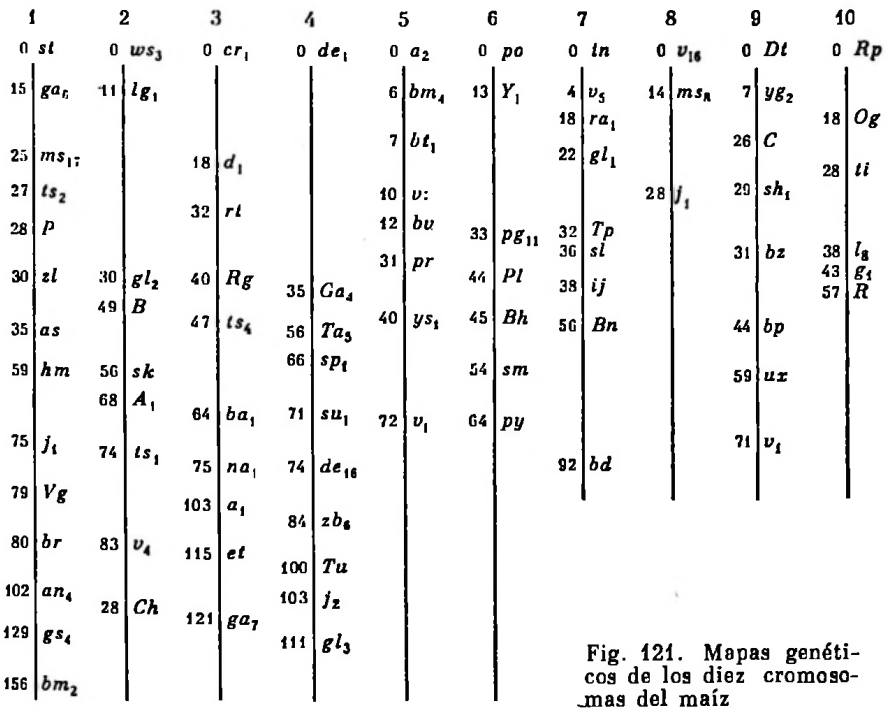


Fig. 121. Mapas genéticos de los diez cromosomas del maíz

entrecruzamiento en *Drosophila*. Basándose en los datos obtenidos en 1919 Sturtevant enunció la tesis de que los genes dentro del cromosoma están dispuestos linealmente. Este importante principio fue demostrado rigurosamente mediante el análisis consecuente de un enlace incompleto en un sistema de genes pertenecientes a un mismo grupo de enlace. De esta manera, el estudio de las interrelaciones en el entrecruzamiento de tres genes demostró que si la frecuencia de *crossing-over* (por ciento) entre los genes A y B es igual a una cierta magnitud M y si entre los genes A y C la frecuencia de intercambios es igual a una magnitud N, entonces la frecuencia de entrecruzamiento entre B y C será igual a la magnitud $M + N$ o $M - N$. Esta ley se aplica a todos los genes de un grupo de enlace dado. Es completamente evidente que la explicación de estos hechos puede sólo darse aceptando la disposición lineal de los genes dentro del cromosoma.

Actualmente, en base a estos experimentos, se han confeccionado los mapas genéticos de los cromosomas para muchos organismos vivos. Los mapas más detallados que se conocen son los de *Drosophila* (fig. 120), guisante de olor, del maíz (fig. 121), del ratón, conejo, la gallina, neurospora, etc.

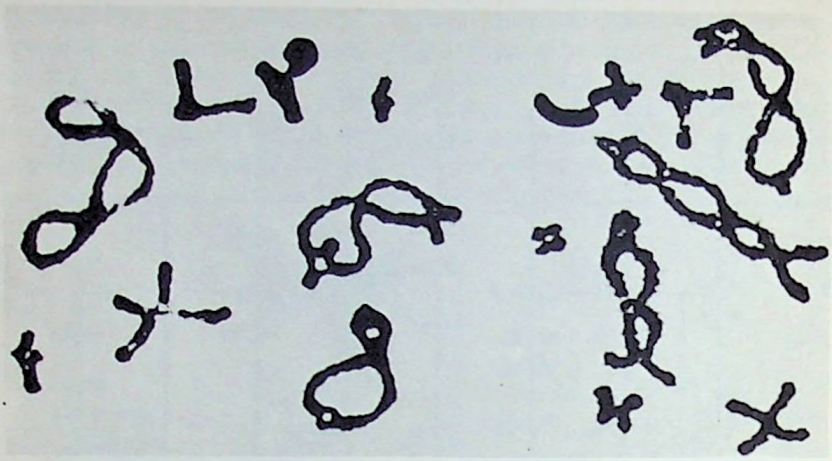


Fig. 122. Pares de cromosomas conjugados en la fase paquiténica de la meiosis en el saltamontes *Chorthippus parallelus*

Se aprecian parejas de cromosomas con una, tres y cuatro quiasmas, que evidencian el hecho del intercambio entre los segmentos homólogos de los cromosomas

En el mapa de los cromosomas del maíz se puede apreciar que el gene para las hojas rayadas (*sr*) está localizado en el punto cero del primer cromosoma. Dista del gene color pardo de la vena central (bm_2) en 156 unidades (por ciento) de entrecruzamiento. Está claro que determinar directamente la frecuencia de entrecruzamiento entre dos genes semejantes es imposible. El mapa de los cromosomas en toda su extensión se confecciona paulatinamente, acumulando los datos de la frecuencia de entrecruzamiento entre los dos genes más cercanos. El largo genético del mapa de los cromosomas puede llegar hasta 100 unidades y más. Si los genes en el cromosoma están situados lo suficientemente distantes el uno del otro, puede obtenerse una magnitud

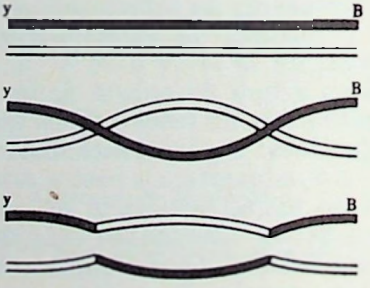


Fig. 123. Entrecruzamiento doble en el cual dos homólogos intercambian entre sí segmentos centrales de los cromosomas

reducida, al determinarse la frecuencia de entrecruzamientos entre ellos.

Los cromosomas se presentan como estructuras largas en la fase paquiténica de la meiosis. En el par de homólogos pueden formarse unos cuantos quiasmas (fig. 122). Este y otros cuadros semejantes muestran que en la pareja de cromosomas aparecen no sólo entrecruzamientos simples, sino también dobles (fig. 123), triples y más complejos (fig. 124) durante la meiosis.

Para detectar los entrecruzamientos dobles se hace necesaria la presencia de la heterocigosis con respecto a tres genes localizados en un grupo de enlace. Analicemos esta cuestión para tres

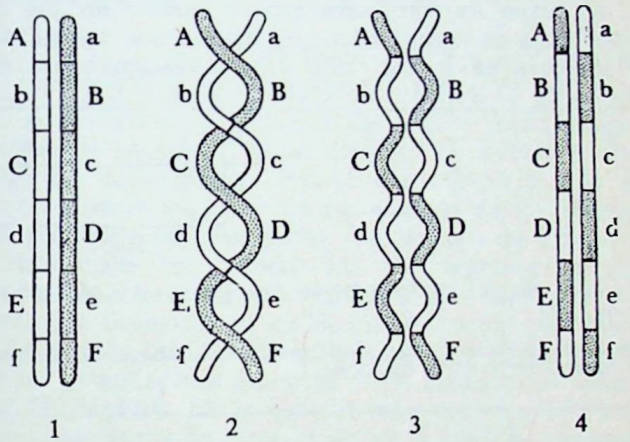


Fig. 124. Cinco intercambios de entrecruzamiento en el par de cromosomas homólogos

1—dos cromosomas homólogos heterocigóticos para los seis pares de alelos; *2*—formación de los quiasmas en la meiosis; *3*—comienzo de la separación de los homólogos después de verificados los intercambios; *4*—dos homólogos que intercambiaron 5 segmentos

genes situados en el cromosoma sexual en *Drosophila* y específicamente para los genes *y* (*yellow*: cuerpo amarillo), *sn* (*singed*: quetas torcidas) y *m* (*miniature*: alas pequeñas). Sus alelos dominantes normales se simbolizan con el signo +. Estos alelos provocan el desarrollo respectivamente del cuerpo gris, quetas rectas y alas de tamaño normal. El experimento se presenta de la siguienta forma:

$$P \text{ hembra } \frac{y\ sn\ m}{+\ +\ +} \times \text{macho } \frac{y\ sn\ m}{}$$

En F_1 tanto los machos, como las hembras tienen un fenotipo determinado por el carácter de los genes en el cromosoma *X*

obtenido de la hembra:

No entrecruzados	*y sn m*	7330	en total 14,670 (66,4%)
	+ + +	7334	
Entrecruzamiento	*y* + +	1994	
simple en el segmento	+ *sn m*	2074	en total 4066 (18,4%)
Entrecruzamiento	*y sn* +	1360	
simple en el segmento	+ + *m*	2318	en total 2678 (12,1%)
Entrecruzamiento	+ *sn* +	332	en total 682 (3,1%)
doble en el segmento	*y* + *m*	350	
	Total	22 096	

De estos datos se deduce que el total de entrecruzamientos en el segmento *y—sn* fue de 21,5% (18,4 + 3,1), y en el segmento *sn—m* su número fue igual a 15,2% (12,1 + 3,1).

El mapa de estos tres genes, basado en los datos expuestos y teniendo en cuenta otros experimentos, presenta el aspecto que se muestra en la fig. 125. Las investigaciones en relación con

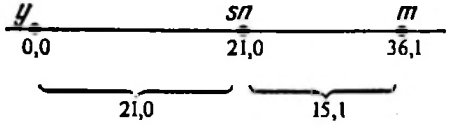


Fig. 125. Mapa genético para los tres genes situados en el cromosoma *X* de *Drosophila*

Las cifras de arriba indican la disposición en el mapa, las de abajo—el porcentaje de entrecruzamiento entre los genes

los dobles intercambios demostraron que éstos no simpre son combinaciones puramente casuales de entrecruzamientos simples. En el caso mencionado, desde el punto de vista de las combinaciones sencillas, se esperaba que la frecuencia de los entrecruzamientos dobles fuera igual a 3,26% (21,5 × 15,2), y en realidad resultó ser de 3,08%, constituyendo el 94,2% de lo esperado.

INTERFERENCIA Y COINCIDENCIA. Esta disminución del número de entrecruzamientos dobles esperados, demuestra que la realización del intercambio en un segmento dado, de alguna forma influye en los entrecruzamientos en el segmento vecino. Este fenómeno fue llamado interferencia.

A medida que disminuyen las dos distancias que separan a tres genes, la interferencia aumenta y al incrementar estas distancias, ésta disminuye. La magnitud de la interferencia se mide con ayuda del coeficiente de coincidencia. El concepto de «coincidencia» es inverso al de la interferencia, que define el grado de coincidencia del número de entrecruzamiento observado con

respecto a los esperados. El coeficiente de coincidencia se determina como el cociente de la división de la magnitud de los entrecruzamientos dobles obtenidos empíricamente por el número esperado. En el caso presentado tenemos que:

$$C = \frac{0{,}0308}{0{,}0327} = 0{,}942$$

En *Drosophilla*, en porciones cortas de cromosomas iguales o menores a 10 unidades de entrecruzamiento (*crossing-over*), no tienen lugar los entrecruzamientos dobles. En porciones distantes a más de 40 unidades de *crossing-over*, los entrecruzamientos dobles se producen según las normas de las combinaciones libres. Aquí $C = 1$, ya que hay una total coincidencia del número real de entrecruzamientos dobles y la cifra esperada.

PRUEBAS DE LA LOCALIZACIÓN DE LOS GENES EN MICROZONAS FÍSICAS DE LOS CROMOSOMAS. Actualmente, gracias a los éxitos de la Citogenética, ha sido posible localizar genes aislados en determinados segmentos físicos del cromosoma. Mucho contribuyó a ello el estudio de los cromosomas gigantes de los núcleos de las células de las glándulas salivales en *Drosophila*. Valiéndose de distintas alteraciones estructurales tales como las deficiencias (cuando dentro del cromosoma han ocurrido pérdidas de unos u otros segmentos de éste), las inversiones, en las cuales porciones dentro del cromosoma ha girado en 180° y otras, ha sido demostrado en qué discos de los cromosomas gigantes están localizados determinados genes en *Drosophila*. En la fig. 126 está representada una porción del tercer cromosoma de *Drosophila*, en el cual, en algunos discos se han localizado los genes del tercer grupo de *linkage*.

Los enlaces de determinados genes con determinados loci físicos establecidos dentro del cromosoma, tuvieron una importancia extraordinaria. En este caso, con ayuda del análisis citogenético, la teoría de los cromosomas fue probada total y absolutamente. La organización de los genes en un cromosoma se presentó en toda su materialidad física.

ENLACE (*LINKAGE*) DE GENES Y MAPAS CROMOSOMICOS DEL SER HUMANO. El hombre tiene 23 pares de cromosomas, lo que indica la existencia de 23 grupos de enlace, para cada uno de los cuales es necesario construir los mapas lineales de disposición mutua de los genes. Sin embargo, actualmente el proceso de «construcción» de estos mapas sólo ha comenzado. Han sido colocadas las primeras piedras en la creación de los mapas para 11 grupos de *linkage*. Entre los autosomas ha sido establecido el enlace de 3 genes para uno de los grupos de *linkage*. Aquí han sido localizados los alelos de los grupos sanguíneos A, B, AB y O y el locus de la eritrocito-

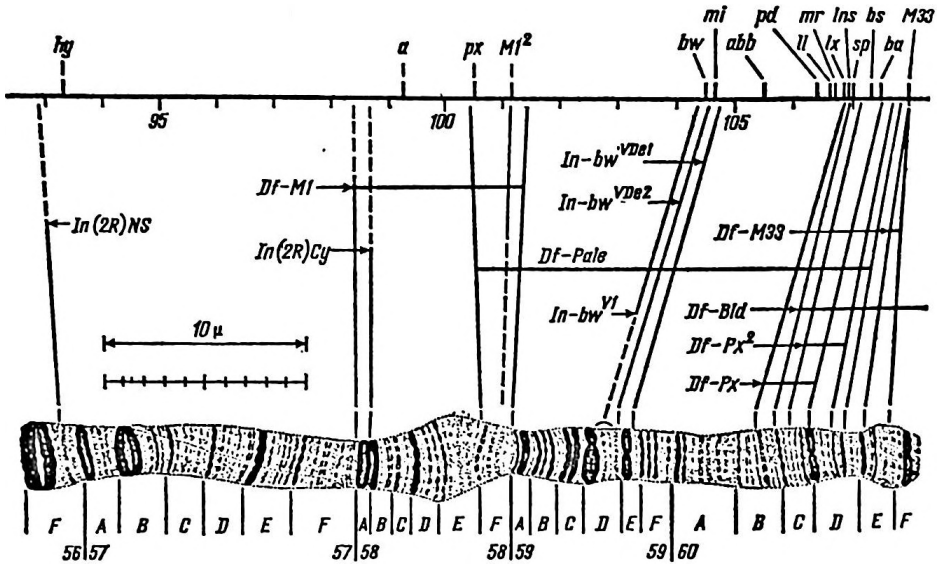


Fig. 126. Localización de los genes en los discos del tercer cromosoma gigante de *Drosophila*

Arriba—el mapa genético de un segmento del cromosoma. Distintos genes: *px*—entrelazamiento de venas en el ala; *bw*—ojos castaños, etc. Abajo—segmento citológicamente visible del tercer cromosoma en el que están localizados los genes en distintos discos, lo que se ha demostrado mediante el análisis comparativo de la participación o no de los alelos en las alteraciones de la estructura de los cromosomas. En el centro—alteraciones en la estructura del cromosoma, que fueron utilizadas para la lozalización citológica de los genes: *In*—inversión; Df—deficiencia; Cy—gene dominante para las alas dobladas incluido en la inversión, etc.

sis, SAK. La distancia entre estos genes es igual al 13% de *crossing-over*. El segundo grupo de enlace en un autosoma contiene 5 genes entre los cuales se encuentra el locus del factor *Rh* y el locus de la eliptocitosis *El*, mutación dominante que provoca la forma ovalada de los eritrocitos. La distancia entre estos loci es igual al 3%. El tercer autosoma posee loci para el grupo sanguíneo Lutheran (*Lu*) y el locus para la secreción (*Se*). Los grupos sanguíneos Lutheran tienen un sistema de dos alelos Lu^a y Lu^b. Los alelos secretores (*Se*) condicionan la secreción en distintos tejidos humanos y en particular de antígenos *ABO* en forma hidrosoluble en la saliva. Los individuos que presentan el alelo recesivo de este locus (*Se*) no secretan antígenos hidrosolubles. La distancia entre los loci *Lu* y *Se* es igual al 13%. Para los genes localizados en el cromosoma *X* ha sido confeccionado un amplio mapa.

La etapa inicial de confección del mapa cromosómico en el hombre ha sido muy significativa. El rápido desarrollo de la

Genética humana alcanzará un profundo conocimiento de la composición arquitectónica de la información genética en los cromosomas humanas. La Medicina del futuro y la Antropología estarán relacionadas por la utilización de estos datos. La revelación de la estructura genética de los 23 pares de grupos de enlace con los mapas lineales exactos de los genes y el conocimiento de la sutil configuración de determinados genes, tendrán una transcendental significación en la lucha contra las enfermedades congénitas y otros caracteres biológicos negativos que se presentan en el hombre.

MECANISMO CITOLÓGICO DEL ENTRECRUZAMIENTO. INTERCAMBIO EN LA FASE DE LOS CUATRO FILAMENTOS. Veamos más detenidamente el mecanismo citológico del entrecruzamiento. Hasta ahora no están definidas las causas intracelulares que provocan el entrecruzamiento. Sin embargo, ha sido establecido que este fenómeno tiene lugar en la fase paquiténica de la meiosis en la etapa de formación de las cuatro cromátidas. El intercambio entre las cromátidas no fraternas en la tétrada produce consecuencias genéticas tales como el enlace incompleto, citologicamente relacionado con la aparición de quiasmas en la tétrada.

Analicemos el entrecruzamiento en la fase de formación de los cuatro filamentos en el siguiente ejemplo. El gene *e* (*ebony*—cuerpo oscuro) está situado en el III cromosoma de *Drosophila* a 70,7 unidades del mapa, y el gene *ca* (*claret*—color cambiante de los ojos) a 100,7 unidades. Sus alelos normales, o sea, los genes que determinan un desarrollo normal de la coloración (gris) y del color normal de los ojos (rojos), se simbolizan mediante los signos + y +. El entrecruzamiento en la tétrada entre los genes *e* y *ca* se produce en el 60% de los casos al tener lugar el intercambio entre las cromátidas no fraternas (fig. 127). Sin embargo, sólo el 30% de los gametos de la hembra heterocigótica pertenecen a la clase de los entrecruzados (*e ca*; ++). Esto demuestra que la frecuencia de intercambio de las cromátidas, en este caso, es igual al 60%, dos veces más alta que la frecuencia del entrecruzamiento. Esto se explica, ya que en la tétrada junto con las formas de *crossover*, se encuentran las cromátidas no crossover (véase fig. 127).

En el sistema que forman las cuatro cromátidas pueden producirse intercambios múltiples tendientes al entrecruzamiento no sólo en dos filamentos, sino en tres y hasta en cuatro cromátidas. Las figuras *A*, *B*, *C* y *D* de la fig. 128 muestran distintos tipos de intercambios dobles, que se producen en el sistema de las cuatro cromátidas. En la representación *A* (fig. 128) se muestra un entrecruzamiento doble normal en el que dos de los filamentos no fraternos no intervienen en el entrecruzamiento y los otros dos, forman el intercambio doble. En la representación *B* aparece un

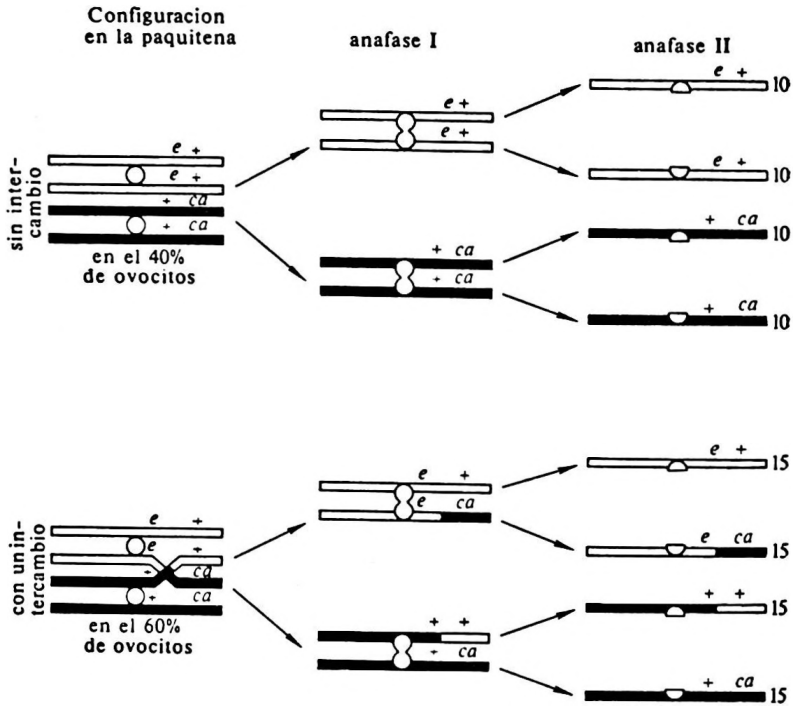


Fig. 127. Entrecruzamiento en la fase de las cuatro cromátidas en la paquitena de la meiosis

La distancia entre los genes *e* y *ca* es igual al 30%

intercambio en el cual participan tres filamentos, dando como resultado que la segunda y la cuarta cromátidas sufren un crossover simple (*sn*++; ++*fu*) y una cromátida, la tercera, lo sufre doble (+*m*+). En la figura *C* tenemos el mismo cuadro, pero con relación a las cromátidas *1*, *2* y *3*. En los casos de *A*, *B* y *C* una de las cromátidas no participa en el intercambio. La representación *D* muestra la participación de las cuatro cromátidas en el entrecruzamiento, lo que da como resultado, que éstas experimentan intercambios simples.

Todos estos datos de los trabajos con *Drosophila*, maíz y otros organismos vivientes, fueron obtenidos a base de análisis estadístico, ya que en estos casos no se pueden observar los resultados directos del entrecruzamiento. Anteriormente, producto de experiencias realizadas en *Neurospora*, fue demostrado que el análisis tetrádrico da pruebas directas de la naturaleza biológica de la segregación. Fue posible demostrar lo mismo también para el

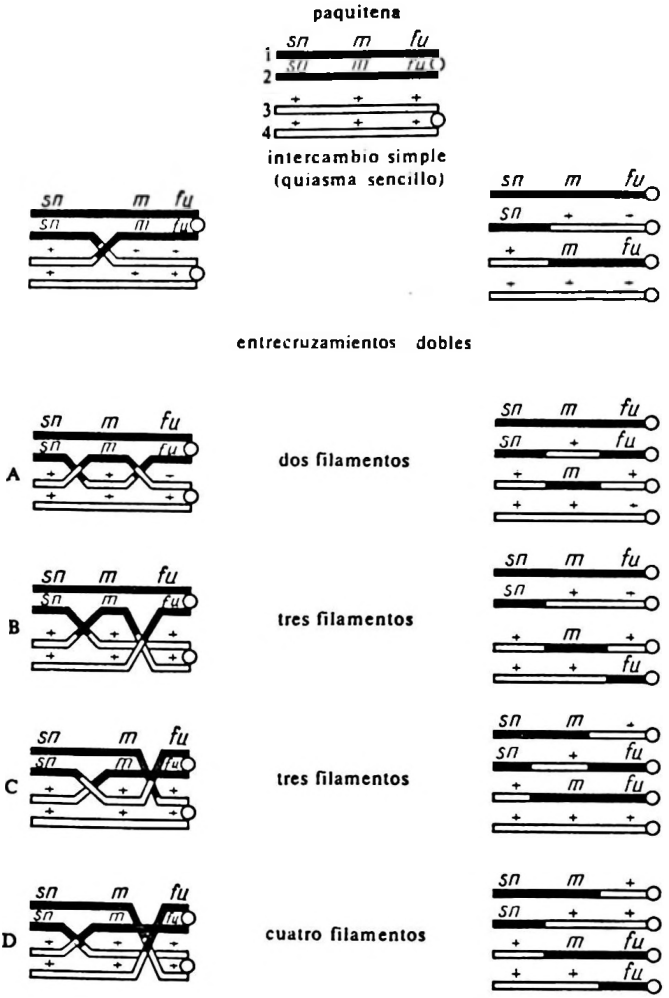


Fig. 128. Intercambio múltiple de los filamentos en la fase de las cuatro cromátidas en la paquitena de la meiosis

Genes del cromosoma sexual de *Drosophila*: *sn* (*singed*)—quetas chamuscadas; *m* (*miniature*)—alas en miniatura; *fu* (*fused*)—venas fusionadas en el ala. Arriba—intercambio simple entre dos filamentos; *A*, *B*, *C*, *D*—intercambios dobles entre dos (*A*), tres (*B* y *C*) y cuatro (*D*) filamentos

caso del entrecruzamiento, donde se han obtenido pruebas evidentes de que éste ocurre en el estadio de los cuatro filamentos en la fase de paquitena de la meiosis. Supongamos que tenemos un cigoto de *Neurospora* del genotipo *a* +, en el cual el alelo normal (+) provoca la pigmentación en la pared adyacente de la

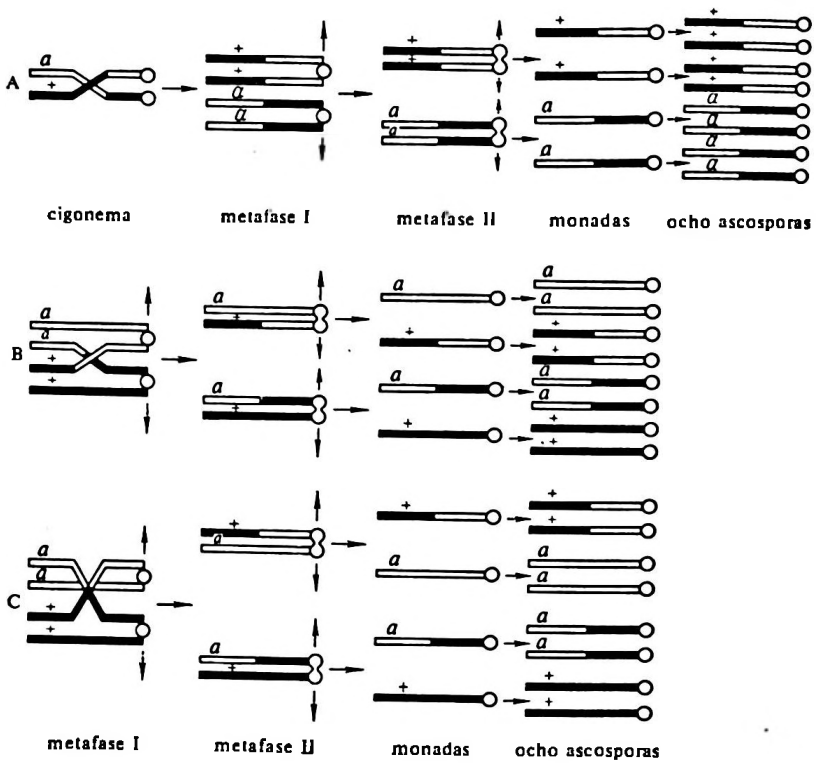


Fig. 129. Análisis tetrádico en *Neurospora* que proporciona pruebas directas de la realización del entrecruzamiento en la fase de los cuatro filamentos en base a la posición de las esporas en las ascosporas

Ver explicación en el texto

ascospora. En lo que respecta al alelo *a*, éste ha perdido tal función. En la fig. 129 están representados los resultados posibles al realizarse distintos tipos de entrecruzamiento. Si el cruzamiento ocurre entre el alelo *a* y el centrómero en el estadio de los dos filamentos, en cada asca estarán contenidas en orden sucesivo cuatro ascosporas pigmentadas y cuatro claras (véase fig. 129, *A*). Un cuadro diferente se presenta cuando el entrecruzamiento tiene lugar en la fase de los cuatro filamentos (véase fig. 129, *B* y *C*). En este caso la disposición de las ascosporas en las ascas reflejará interrelaciones más complejas. Aquí deben surgir ascas con el siguiente orden de ascosporas: dos claras; dos oscuras; dos claras; dos oscuras (fig. 129, *B*) y, por último, dos oscuras, cuatro claras y dos oscuras (véase fig. 129, *C*). Si vemos el cuadro real de disposición de las ascosporas en las ascas, tendremos pruebas

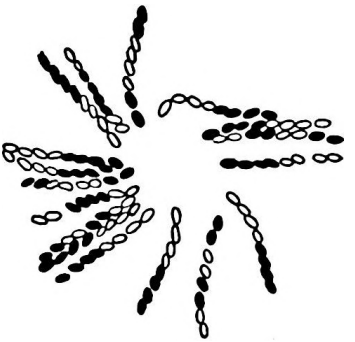


Fig. 130. Disposición de las esporas en las ascosporas como consecuencia del entrecruzamiento en la fase de los cuatro filamentos en *Neurospora* (según D. Stadler)

concretas y evidentes de que el entrecruzamiento se produce realmente en la fase de los cuatro filamentos. Podemos apreciar en la fig. 129, *B* la sucesión de las ascosporas en la siguiente forma: *aa* ++ *aa* ++ y en la fig. 129,*C*, su orden es como sigue: ++ *aaaa* ++, lo que corresponde completamente a la disposición de las ascosporas en las ascas bajo la condición de que el entrecruzamiento se produzca en la fase de los cuatro filamentos (fig. 130).

ENTRECRUZAMIENTO SOMÁTICO. C. Stern demostró, basándose en el caso de *Drosophila* (fig. 131), que el entrecruzamiento puede surgir no sólo en la meiosis durante el desarrollo de las células embrionarias, sino también, en algunos casos, en células somáticas normales. El describió el fenómeno del llamado entrecruzamiento somático.

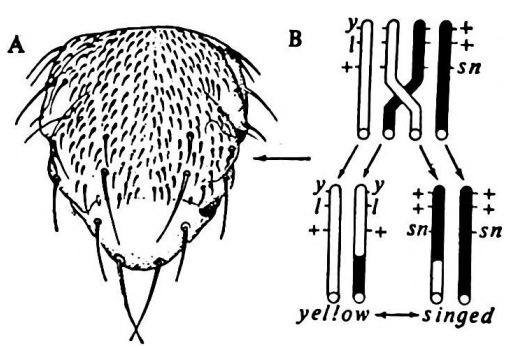


Fig. 131. Tórax y escutelo de una hembra de *Drosophila melanogaster* (A) heterocigótica para el gene *yellow* (*y*—cuerpo amarillo) y para el gene *singed* (*sn*—quetas chamuscadas)

En general *Drosophila* posee quetas normales largas y una coloración gris del cuerpo. Rara vez surgen dos manchas situadas una junto a la otra: una con quetas chamuscadas en medio del color gris del cuerpo, la otra con quetas amarillas en un cuerpo amarillo; *B*—mecanismo del surgimiento de manchas «gemelas» debido al entrecruzamiento somático en la fase de los 4 filamentos (según E. Hadorn)

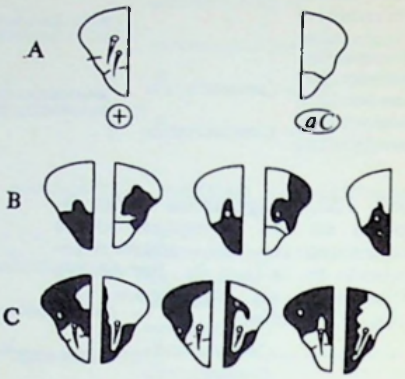


Fig. 132. Mosaico de las quetas como resultado del entrecruzamiento somático en *Drosophila*

A—a la izquierda se observa que la mitad del tórax es normal (+), a la derecha se presenta un mutante sin quetas (*aC*); *B* y *C* mitades del tórax con mosaico constituidas del tejido del tipo salvaje (blanca) y de tejido mutante (negra)

Pontecorvo descubrió que el entrecruzamiento somático puede producirse en los núcleos diploides del micelio de distintos tipos de mohos *Aspergillus*. Por lo visto, el entrecruzamiento somático está ampliamente difundido (fig. 132, 133), aunque por lo general

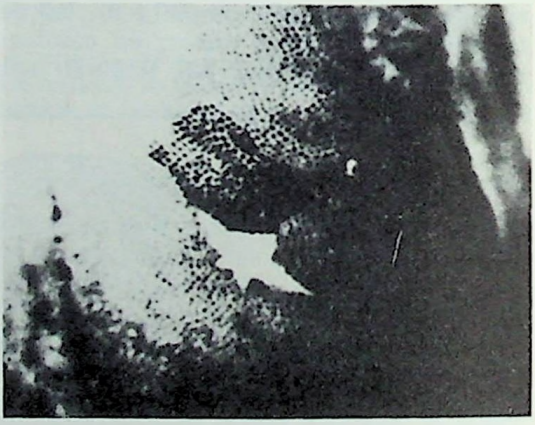


Fig. 133. Mancha «gemela» en la superficie de un grano de maíz, una mitad es incolora; y la otra tiene la capa aleurónica de color oscuro

no se percibe, ya que surge raras veces. La relativa alta frecuencia del entrecruzamiento somático en *Drosophila*, por lo visto, está relacionada con la ostensible tendencia de los cromosomas homólogos a la conjugación en las células somáticas de estas especies. Un claro ejemplo de este fenómeno lo constituye la formación en

Diptera de cromosomas gigantes en los núcleos de las células de las glándulas salivales, cada uno de los cuales es el resultado de la conjugación de muchos homólogos.

DEPENDENCIA DEL ENTRECRUZAMIENTO DE LAS CONDICIONES DEL MEDIO EXTERNO E INTERNO. El proceso de entrecruzamiento puede ser modificado ostensiblemente por diversos factores externos e internos. Tiene gran influencia en el entrecruzamiento el sexo. Así, en *Drosophila*, el entrecruzamiento se produce sólo en las hembras. H. Friesen demostró que el entrecruzamiento puede ser provocado en los machos de *Drosophila*, al aplicárseles a éstos rayos de Roentgen (rayos X). En el gusano de seda no se produce entrecruzamiento en las hembras y sí en los machos. En el caso del guisante de olor el entrecruzamiento tiene lugar tanto al producirse el polen, como en la ovogénesis. En los ratones se produce en ambos sexos, pero más intensamente en las hembras. En las palomas tiene lugar tanto en uno como en el otro sexo, pero más frecuentemente en los machos. Hay genes que regulan el proceso de entrecruzamiento. Así tenemos que en el III cromosoma en *Drosophila*, ha sido encontrada una mutación que interrumpe el entrecruzamiento en todos los pares de cromosomas. También influye en la frecuencia de *crossing-over* la edad de las hembras en *Drosophila*. A una temperatura de 17—29 °C el entercruzamiento transcurre con una frecuencia constante. Esta frecuencia aumenta tanto al bajar como al subir la temperatura. Por último es necesario señalar que las distintas mutaciones estructuras de los cromosomas varían la frecuencia del entrecruzamiento.

MECANISMO DEL ENTRECRUZAMIENTO. El entrecruzamiento tiene lugar a nivel de intercambio de las partes homólogas de las moléculas de DNA. La naturaleza de este fenómeno será tratada más adelante. No obstante, las particularidades de la estructura cromosómica y las condiciones externas influyen en el proceso del entrecruzamiento.

Es de interés el hecho de que las distancias entre los genes resultan tener valor desigual, aunque el orden de ellos en los mapas citológico y genético es el mismo. Esta no coincidencia resulta distinta para diferentes segmentos de los cromosomas. Una considerable influencia ejerce el centrómero, que suprime el entrecruzamiento en las zonas adyacentes. En la tabla 11 se muestran las diferencias en las frecuencias de entrecruzamiento en los distintos puntos del cromosoma gigante *X* de las células de las glándulas salivales de *Drosophila*.

Todo esto muestra la no correspondencia de las distancias de acuerdo con los mapas citológico y genético. La acumulación de genes en el mapa genético puede significar no una cercanía física de los grupos de genes, sino la relativa rareza del entrecruzamiento en un segmento dado.

Tabla 11

Frecuencia del entrecruzamiento según distintas zonas del mapa citológico del cromosoma X en Drosophila

Segmento entre genes	Números de discos	Entrecruzamiento, %	Frecuencia (por 1 disco)
J — pn	57	0,8	0,014
pn — w	18	0,7	0,033
w — rst²	2	0,2	0,1
rst² — fa	2	1,3	0,65

Para llegar a comprender el mecanismo del entrecruzamiento tiene gran importancia el hecho de que éste no está relacionado con la síntesis del DNA en el momento en que tiene lugar la duplicación de los cromosomas. Este mecanismo se lleva a cabo en la fase de paquitena de la primera división meiótica al terminarse la síntesis del DNA. Al mismo tiempo, como habíamos dicho anteriormente, al producirse el entrecruzamiento ocurre la síntesis no replicativa del DNA, lo cual demuestra el papel de las enzimas de reparación.

El intercambio de segmentos homólogos es, en sumo grado, un proceso exacto y preciso en el cual tiene lugar una rigurosa recombinación de segmentos homólogos de las cromátidas no fraternas. Tal exactitud en el intercambio supone la conservación de la composición completa nucleotídica de las moléculas de DNA después del intercambio de porciones entre distintas cromátidas.

Preguntas para discutir

11-1. ¿Cómo se resuelve la no correspondencia entre la cantidad de genes de una especie dada y el número de parejas de cromosomas, si éstos son los portadores físicos de los genes?

11-2. ¿En qué consiste el fenómeno del enlace incompleto de los genes y cuáles son sus causas?

11-3. ¿Qué es un grupo de enlace y cuántos grupos de éstos puede tener cada especie de organismo?

11-4. Explique ¿por qué en la fig. 134 en F_2 (fila inferior) en lugar de la segregación mendeliana 1 : 1 : 1 : 1, aparece la relación 41,5 : 41,5 : 8,5 : 8,5%?

11-5. ¿Qué descendencia debe esperarse como resultado del cruce de individuos grises de alas largas de F_2 (fig. 135) con machos de F_1 negros y con alas vestigiales?

11-6. Describa los principios fundamentales utilizados por Stern en sus experiencias con *Drosophila* para demostrar citológicamente el entrecruzamiento.

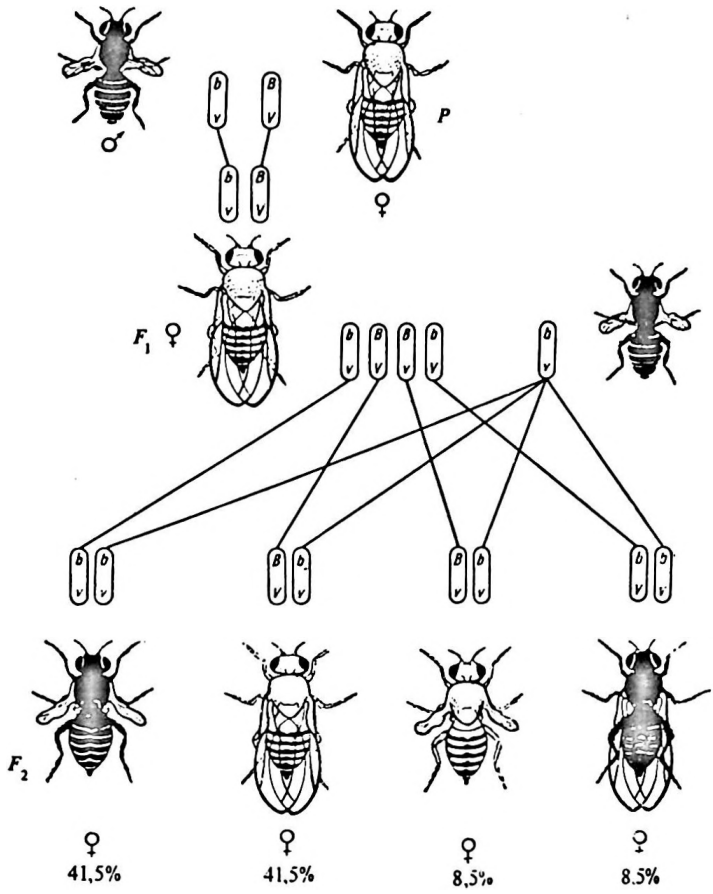


Fig. 134. Entrecruzamiento en *Drosophila*

La F_2 se muestra solamente en las hembras; *B*—cuerpo gris, *b*—cuerpo negro; *V*—alas normales y *v*—alas vestigiales

11-7. ¿De qué forma la investigación sobre la no disyunción primaria en *Drosophila* permitió relacionar el primer grupo de enlace con el cromosoma *X*?

11-8. ¿Qué descendencia debe esperarse producto del cruce de una hembra de *Drosophila* homocigótica para el gene *vermillion* (*vr*: ojos color bermellón) y que además tiene el cromosoma *Y* (*XXY*) con un macho normal de ojos color rojo oscuro (*XX*)?

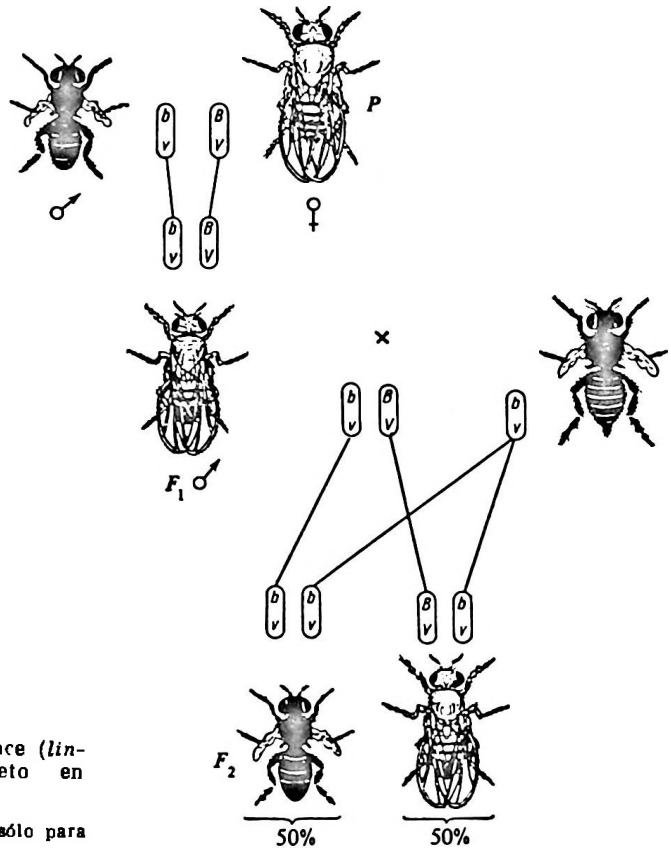


Fig. 135. Enlace (*linkage*) completo en *Drosophila*

F_2 se muestra sólo para los machos

11-9. Al hacerse la investigación del entrecruzamiento en el II cromosoma en *Drosophila*, fue demostrado que la distancia entre el gene *Star* (ojos ásperos) y el gene *Curly* (alas crespas) es igual al 7,2%. La distancia entre el gene *Curly* y el gene *dumpy* (*dp*: alas regordetas) es igual a 4,5%. ¿Qué puede decirse de la supuesta distancia entre los genes *Star* y *dumpy*? ¿A qué puede igualarse?

11-10. ¿Qué principios se esgrimen en la demostración de la disposición lineal de los genes? ¿Qué son los entrecruzamientos simple y doble?

11-11. ¿Cuántas clases de gametos produce la hembra de *Drosophila* y en qué porcentaje surge cada uno de estos tipos de gametos, si esta hembra es heterocigótica para los genes *Star*, *Curly* y *dumpy*? La primera distancia (*Star—Curly*) es igual a 7,2%, la segunda (*Curly—dumpy*) a 4,5% y la tercera (*Star—dumpy*) a 11,7%.

Es necesario tener en cuenta tanto los entrecruzamientos simples como dobles.

11-12. ¿Influirá el crossover que tiene lugar en un segmento sobre los cruzamientos en otros segmentos? ¿Qué es la interferencia y el coeficiente de coincidencia?

11-13. ¿De qué forma fue posible localizar físicamente genes en distintos microsegmentos (discos) en *Drosophila*?

11-14. Describa ejemplos de grupos de enlace en el hombre.

11-15. ¿En qué consiste el mecanismo de entrecruzamiento, al presentarse los intercambios en las tétradas en la fase de los cuatro filamentos?

11-16. Con ayuda del análisis tetraédrico describa los métodos que demuestran la existencia real del fenómeno del entrecruzamiento en los cuatro filamentos.

11-17. ¿Tiene o no lugar el entrecruzamiento en las células de los tejidos somáticos? ¿Por qué el individuo heterocigótico para determinados genes, puede producir «manchas gemelas» cada una de las cuales es homocigótica para el alelo recesivo?

11-18. Enumere los factores que influyen en el entrecruzamiento al producirse éste.

11-19. Al cruzarse una hembra de *Drosophila* de cuerpo negro (*black*—recesivo) y alas normales (+—dominante) con un macho gris (+—dominante) con una red de venas en las alas (*plexus*——recesivo), se obtiene la siguiente descendencia: 280 individuos grises con alas normales, 336 grises con una red de venas en el ala, 334 negros con alas normales; 230 negros con una red de venas en el ala. Calcule la distancia entre los genes *black* y *plexus* que se encuentran localizados en el II cromosoma de *Drosophila*.

11-20. ¿Por qué en el caso representado en la fig. 135 en F_2 se obtuvieron solamente dos clases de individuos iguales a los padres iniciales? ¿Cuál es la causa del enlace completo en este caso? ¿En qué se diferencia la transmisión hereditaria en este caso con el presentado en la fig. 134?

11-21. ¿Existe coincidencia en la magnitud de las distancias entre los genes según los mapas citológico y genético? ¿Cuál es la causa de las diferencias observadas?

11-22. ¿Está relacionado el proceso del entrecruzamiento con la síntesis de DNA, que tiene lugar al efectuarse la duplicación de los cromosomas? ¿Qué se entiende por síntesis no replicativa del DNA?

11-23. ¿Qué particularidades del entrecruzamiento señalan que su realización exige un riguroso mecanismo molecular?

XII Recombinaciones en bacterias y virus

Entre las especies de eucariotas el peso fundamental de los procesos recombinatorios, que surgen producto de la combinación independiente de las parejas de cromosomas en la meiosis y del entrecruzamiento en los límites de los grupos de enlace, depende de la correlación del número general de genes con el número de cromosomas. En las procariotas el cuadro cambia en absoluto. En éstos no se produce la meiosis; todos sus genes están concentrados en un grupo de enlace. En las procariotas las combinaciones son posibles entre los genes localizados en sus cromosomas, por un lado, y por otro—a partir de material genético complementario en los episomas y plasmidas.

Largo tiempo se consideró que en las bacterias y virus no se producían procesos de recombinación, no obstante, resultó que en las bacterias tienen lugar procesos sexuales y otras formas de intercambio de genes. Los virus también mostraron la capacidad de conjugar las moléculas de DNA y del intercambio de sus segmentos homólogos, o sea, del entrecruzamiento durante su reproducción en la célula.

DUPLICACIÓN DEL DNA Y RNA EN LOS VIRUS. Un importantísimo objeto de las investigaciones modernas sobre la Genética molecular lo constituyen los bacteriófagos o fagos (virus de las bacterias). Actualmente se conoce bien la estructura de los fagos. En las figs. 136 y 137 se muestra la estructura de los bacteriófagos pares T. Por ejemplo, el fago T2 se fija a través de la cola a la célula de *E. coli* e inyecta en ella el contenido de su cabeza, o sea, la molécula de DNA. Posteriormente se produce la multiplicación de las partículas del fago en las células de la bacteria. Al cabo de 20—40 minutos el DNA del fago induce en la célula la síntesis de la enzima lisozima, la cual destruye (provoca la lisis) de la envoltura de las bacterias y libera nuevas partículas infecciosas del fago (fig. 138).

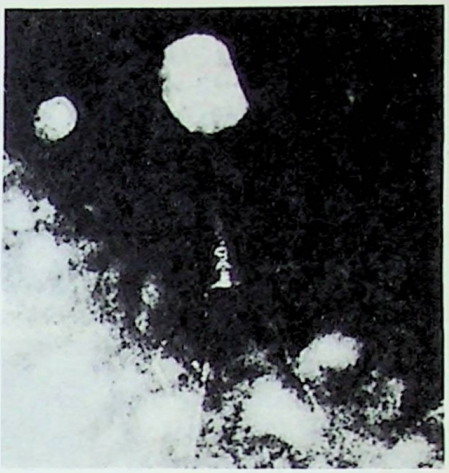


Fig. 136. Bacteriógrafo *T4* (× 300 000) (según T. F. Anderson)

La partícula del fago se reproduce dentro de la bacteria y produce múltiples descendientes, que después de lisada la bacteria contagian las células vecinas. Después de varios ciclos de reproducción y como resultado de esto, surge una esfera de lisis en la densa siembra del cultivo de bacterias, la cual ha recibido el nombre de mancha estéril (fig. 139). Cada mancha puede provenir de la contaminación provocada por una partícula inicial de fago.

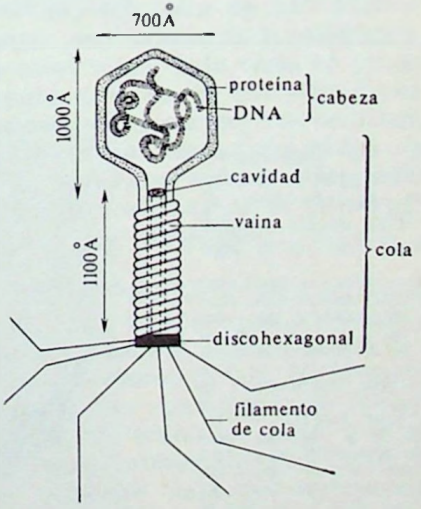


Fig. 137. Estructura de los fagos de *T* pares que infectan a *E. coli*

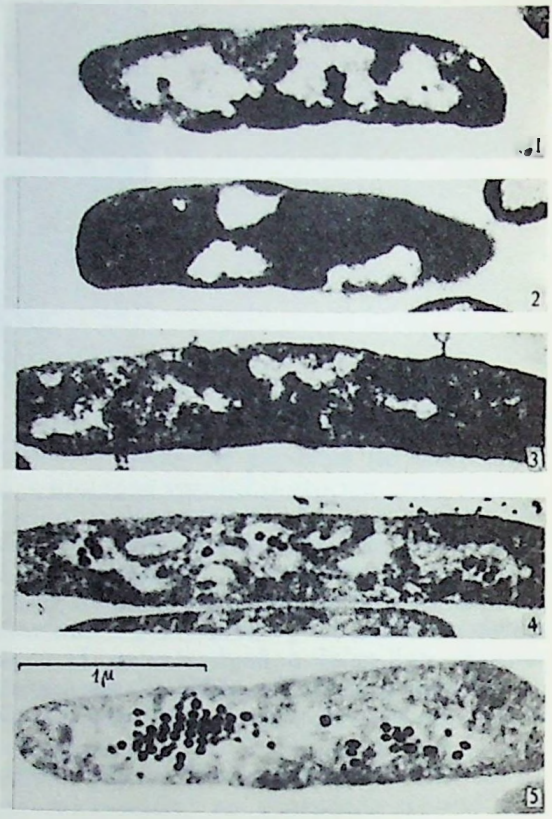


Fig. 138. Desarrollo del fago *T2* dentro de la célula de *E. coli*

1— célula normal de la bacteria antes de la infección;
2—4 minutos después de contaminada;
3—10 minutos después de infectada;
4—al cabo de 12 minutos de la contaminación se forman nuevas partículas de virus;
5—30 minutos después de la infección: más de 50 partículas del fago están formadas por completo. La célula bacteriana se encuentra en estado de prelisis (según E. Kellenberger)

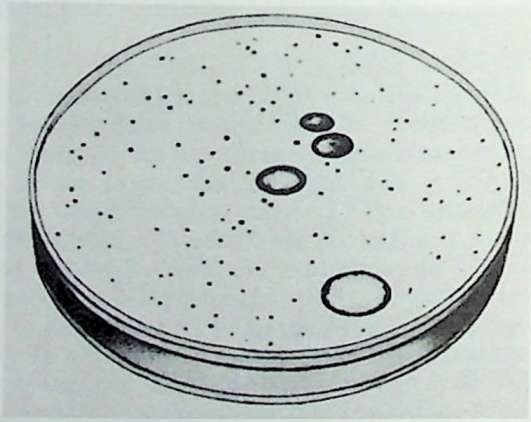


Fig. 139. Manchas estériles que se producen al afectarse el cultivo de las células de *E. coli* por el fago

La cápsula de Petri contiene un medio en el cual se reproducen las bacterias, formando una colonia de color gris blancuso, producto de una cantidad innumerable de células en la superficie del agar. Las manchas redondas y oscuras (las manchas estériles) son las zonas, en las cuales las poblaciones de bacterias fueron destruidas por el fago

Al penetrar en el interior de la célula bacteriana con frecuencia el DNA del virus, hace variar considerablemente el funcionamiento del aparato genético de ésta. El DNA del fago codifica la enzima que inhíbe los genes de la bacteria. Al reproducirse el fago T2, el cromosoma de *E. coli* es destruído por la enzima codificada por el DNA del fago. El proceso de duplicación del DNA del virus se realiza de la misma forma que la duplicación del DNA celular. Esto le permite al fago utilizar la DNA-polimerasa de la célula. En muchos casos el DNA del fago contiene bases no comunes. Así, en el DNA del fago T2 la citosina está reemplazada por 5-oximetilcitosina. En este caso el DNA del fago contiene la información de la síntesis de esta base y solamente después del surgimiento de ésta se realiza el proceso de duplicación del DNA del fago. Semejante principio de introducción en la célula de una información específica, sin la acción de la cual no se realiza la síntesis matricial de las moléculas de ácidos nucleicos, concierne a la autorreproducción del RNA viral. Habitualmente las células carecen de enzimas para la síntesis matricial de las moléculas de RNA. El fermento que propicia la síntesis del RNA se forma en las células, después que ha penetrado en ellas el RNA del virus.

Las dimensiones de las moléculas duplicadas de DNA y RNA de los virus varían apreciablemente. Los virus más pequeños tienen de 3—5 genes. El virus más pequeño que contiene DNA es el virus del polioma. Este virus penetra en el núcleo de las células de los ratones donde se produce su reproducción. El peso molecular del virus es igual a $3 \cdot 10^6$. En su DNA hay 5000 pares nucleotídicos que sólo constituyen unos cuantos genes. Entre los virus más pequeños que contienen RNA, se encuentra el bacteriófago P2. En el RNA de este virus hay alrededor de 3000 nucleótidos. En las células de las hojas del tabaco hay solamente 1000 nucleótidos de cada uno de estos virus. Este virus no puede reproducirse por sí solo y únicamente en el caso de que se produzca la contaminación simultánea por otro virus mayor, que contenga RNA, un virus de 1000 nucleótidos adquiere la capacidad de reproducirse. El fago T4 contiene aproximadamente 100 genes. De ellos 15 garantizan la síntesis de proteínas de la envoltura del fago; 15, la síntesis de antecesores núcleoproteicos, etc.

CRUZAMIENTO DE VIRUS.

El término «cruzamiento», por un lado parece extraño, cuando se relaciona a los virus, sin embargo refleja correctamente los fundamentos que caracterizan el cruzamiento en las formas superiores. Resulta, que al producirse la contaminación de las células bacterianas por el virus, las moléculas de DNA que se reprodujeron se conjugan por parejas, intercambiando entre sí segmentos homólogos. Las pruebas acerca de esta idea fueron aportadas por Visconti y Delbrück en 1953.

Cuando las bacterias se contaminaban por la mezcla de partículas de fagos, una parte de los cuales tenía dos genes, *h* y *r*, y la otra, los alelos normales $+^h$ y $+^r$, se manifestó el fenómeno de la recombinación. Resultó que entre las partículas salidas de las células de las bacterias después de su lisis, fueron descubiertas, no sólo partículas con las cuales fue contaminada la célula de *E. coli*, sino también con nuevas combinaciones de genes, introducidos con distintas partículas del fago. Se detectaron tanto partículas progenitoras: *hr*; $+^h$; $+^r$, como también nuevas combinaciones de genes: $+^h$r; h$+^r$.

MAPA GENÉTICO DE LOS VIRUS Y CROMOSOMA. Teniendo en cuenta las recombinaciones de numerosos genes, se han confeccionado mapas genéticos de la disposición lineal de los genes para los fagos *T4*, *T2*, el fago lambda y otros. Con ayuda de una serie de procedimientos se logró mostrar la correspondencia entre los mapas genéticos y la disposición de los genes en los cromosomas de los virus.

A comienzos de los años 60 A.D. Kaiser y D. S. Hogness se basaron en el hecho de que al agitar enérgicamente una solución de DNA, se produce la ruptura de las moléculas. Es posible lograr las condiciones en las cuales el DNA se rompe aproximadamente por la mitad. Al producirse la contaminación con las mitades de las móleculas fue demostrado que ellas portan un 50% del mapa genético. M. Meselson y Wheigl demostraron la coincidencia entre las distancias del mapa con las dimensiones físicas de los cromosomas del fago lambda, utilizando para ello la transmisión de isótopos en las partículas recombinadas del fago. Al tener una estructura lineal los mapas genéticos resultaron ser círculos cerrados. Esto también concordaba con la estructura física de los cromosomas. Los mapas genéticos de los cromosomas anulares se han estudiado para una serie de las partículas de virus (fig. 140).

Al estudiar la recombinación en los virus, se ha descubierto el fenómeno de la interferencia negativa. Si en las eucariotas el hecho de que ocurra el intercambio, inhibe la frecuencia de éste en las zonas vecinas del cromosoma, en los virus ha sido detectada una correlación positiva con relación a los intercambios entre los genes en las zonas vecinas. Además, al producirse la recombinación en los virus, se ha demostrado que en caso de intercambio elemental, no surgen recombinadores recíprocos. Y finalmente, el intercambio en una serie de casos, conduce al surgimiento de un tipo especial de heterocigosis de las moléculas de DNA. Este fenómeno consiste en que una molécula recombinada de DNA da origen a descendientes con dos genotipos distintos.

Es evidente, por lo tanto, que la molécula inicial de DNA recombinada posee afecciones opuestas en las dos cadenas de dicha molécula. El concepto de heterocigosis, en este caso, tiene otro

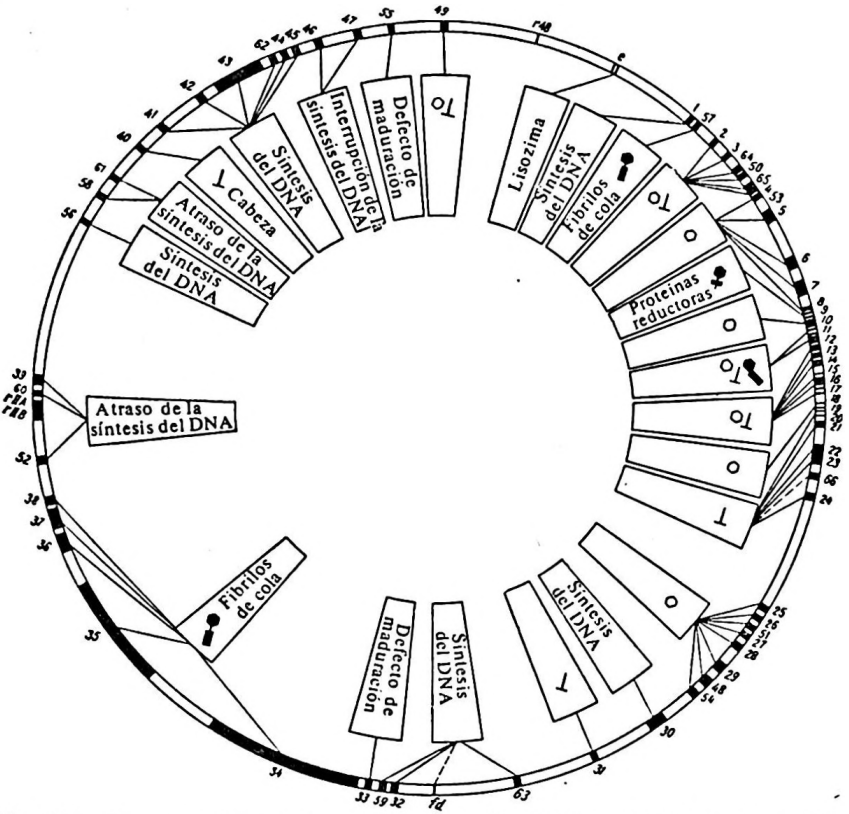


Fig 140. Mapa genético del cromosoma anular del fago *T4* (según R. S. Edgar)

carácter en comparación con los heterocigotos normales portadores de dos diferentes alelos en distintos homólogos.

Actualmente, estos aspectos propios del fenómeno de la recombinación en los virus, están siendo estudiados intensivamente. Ha sido demostrado que las recombinaciones en los virus pueden tener un carácter tanto intergénico como intragénico. En el segundo caso, el estudio de las recombinaciones ha servido para revelar la fina estructura del gene, lo cual será tratado en los capítulos siguientes.

RECOMBINACIONES EN LAS BACTERIAS. En las investigaciones actuales sobre Genética molecular el colibacilo ocupa uno de los primeros lugares. La *Escherichia coli* es un organismo en forma de bastoncillo (fig. 141) con cerca de 2μ de longitud y 0,8—1 μ de espesor. Sus dimensiones pueden cambiarse en dependencia de la fase de desarrollo en que

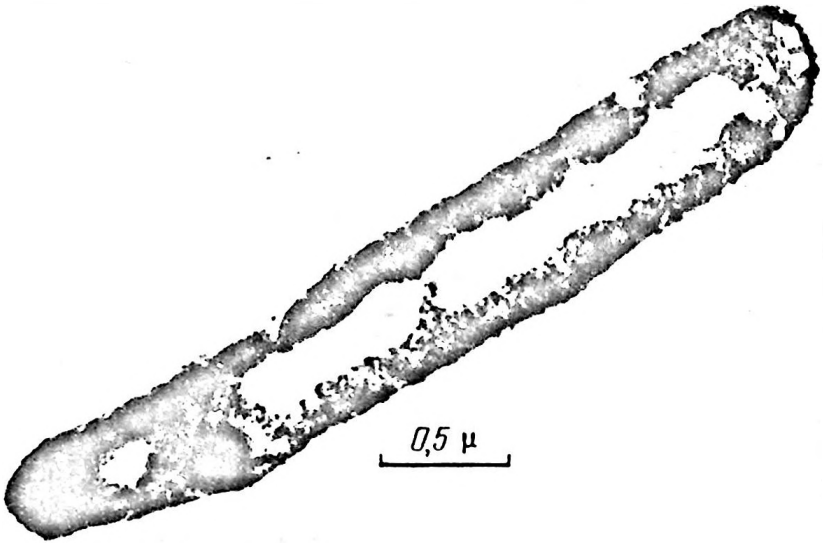


Fig. 141. Célula del colibacilo *E. coli* de la línea *K*12

La zona clara es la ocupada por el DNA (nucleoide). El citoplasma y el DNA no están separados uno del otro por la membrana nuclear propia de las células de las formas superiores. Los gránulos del citoplasma son fundamentalmente ribosomas. La envoltura de la célula está formada por una membrana citoplasmática y pared celular

se encuentra el cultivo. El colibacilo tiene una estructura típica para la mayoría de las bacterias. Exteriormente la célula está revestida de una dura envoltura celular, que conserva su forma, incluso cuando se ha vaciado su contenido, debido a causas varias. Bajo la envoltura celular se encuentra la membrana citoplasmática, flexible y fina. Si se elimina la envoltura celular por el efecto producido por la enzima lisozima o por otras acciones, entonces la membrana citoplasmática con su contenido toma la forma de una esfera, llamado protoplasto o esferoplasto. En el protoplasma de la bacteria se encuentran los núcleos, que en las bacterias reciben el nombre de nucleoides, por cuanto se diferencian notablemente de los verdaderos núcleos en los organismos superiores. Los nucleoides son haploides y contiene cada uno un cromosoma. Este cromosoma está representado por un largo filamento anular de DNA (sobre lo cual se hablará más adelante) que en *E. coli* tiene una longitud aproximada de 1300 μ, o sea, que es más larga que la propia célula bacteriana más de 600 veces. Sin embargo, dentro de la célula el cromosoma se encuentra arrollada múltiples veces y compactamente «empaquetada». El cromosoma está fijado, por lo menos, en un punto a la membrana

citoplasmática y más exactamente hablando, a las invaginaciones que parten de la membrana hacia el interior de la célula llamadas mesosomas

El cromosoma del colibacilo se duplica a partir de un punto estrictamente determinado (el que está adherido a la membrana citoplasmática). «Las ondas de duplicación» salen en ambos sentidos, desde «el punto de partida» hasta el medio del anillo cromosómico en que se encuentran. De esta misma forma se duplica el cromosoma de otro modelo genético bacteriano: el *Bac. subtilis*, y posiblemente, de las demás bacterias. En 20 minutos se produce la duplicación del cromosoma del colibacilo. Posteriormente los cromosomas duplicados se separan y entre ellos comienza a crecer un tabique de membrana citoplasmática. Los protoplastos separados por tal tabique, se mantienen algún tiempo bajo la misma envoltura celular, pero después ocurre la división de la propia célula. En dependencia de la rapidez de crecimiento del cultivo, dentro de una misma envoltura celular pueden encontrarse desde uno hasta ocho nucleoides y más. En este último caso la bacteria vista a través del microscopio parecerá multinuclear. En las sucesivas divisiones estos nucleoides se dirigirán hacia las células hijas. El colibacilo puede desarrollarse y reproducirse en el más simple medio nutritivo, que contenga glucosa y algunas sales inorgánicas. Esto la convierte en el más alto grado, en un cómodo objeto de laboratorio.

La prueba de la existencia de las recombinaciones en las bacterias estuvo relacionada con el descubrimiento en éstas del proceso sexual y con el estudio de los fenómenos de transformación, transducción y lisogenia. Los trabajos fundamentales fueron hechos a base del colibacilo (*Escherichia coli*).

En 1946 Y. Lederberg y E. L. Tatum estudiaron las consecuencias de la reproducción de la mezcla de células de dos líneas de bacterias. Estas líneas se diferenciaban en cuanto a la composición de mutaciones auxotróficas. La línea 58-161 presentaba en el cromosoma de la bacterias mutaciones relacionadas con la necesidad de biotina (*bi*) y de metionina (*met*). La línea No. 1177 requería treonina (*thr*), leucina (*leu*) y tiamina (B_1).

Generalmente, las mutaciones en estas líneas surgían como promedio con una frecuencia de 10^{-7}. Esto demuestra que la aparición de la norma en la cepa 58-161 podía suceder con una frecuencia de 10^{-14}, y en la № 1177, con 10^{-21}. Es evidente que la dimensión del experimento no permitía encontrar casos de coincidencia casual de dos o tres mutaciones. La siembra de cada una de las cepas en el medio mínimo traía como consecuencia la destrucción de todas las células. Al realizarse la siembra de la mezcla de células por cada 10^6 de ellas, surgía una de tipo prototrófico, la cual era capaz de sobrevivir en un medio «mínimo». El surgimiento de los prototrofos constituyó una prueba de que los cromosomas de diferentes células, de alguna forma, entran en

contacto e intercambian segmentos. Sólo así podían surgir formas que contienen en su cromosoma todos los alelos normales necesarios, que originalmente se hallaban en distintas células. De esta forma fueron asentadas las bases de la teoría sobre la existencia de ciertas formas de reproducción sexual en las bacterias.

El método elaborado por Lederberg permitió hacer un mapa genético de la *E. coli*. En este caso, al realizarse las recombinaciones, la distancia entre los genes resultó directamente proporcional a la frecuencia de recombinación. Estos experimentos fueron el primer indicio de la existencia de este fenómeno en las bacterias. Posteriormente fue determinado que la recombinación de los genes es el resultado de la sinapsis de las células bacterianas, lo que está relacionado con el transporte de material genético de la célula donante a la recipiente al tener lugar un contacto físico directo entre éstas.

FACTOR *F* O EPISOMA BACTERIANO. Sin embargo, si las células de diferentes líneas de *E. coli* intercambian material genético, quiere decir que, en principio, se trata de algo análogo a lo que sucede en las formas superiores de vida. Cabe formularse la pregunta acerca de ¿cómo sucede el proceso real? Fue descubierto que en el proceso sexual que tiene lugar en las bacterias, se observa el fenómeno de conjugación de las células, que se manifiesta en la aparición de un contacto temporal físico entre las células de las bacterias a través de la formación de un puente citoplasmático. Este contacto crea las condiciones para que el material genético de una célula bacteriana penetre en otra. Los fundamentos de este fenómeno fueron esclarecidos en los trabajos de E. Wollman y F. Jacob en 1955. Antes que ellos, en el año 1952 Hayes descubrió, que en los fenómenos de recombinación en las bacterias, una de las líneas sirve de donante y la otra de recipiente

El análisis de esta cuestión demostró que las células donantes F^+ (células masculinas de las bacterias) se caracterizan por la presencia de un factor especial *F*. Este factor es un DNA especial, aparte del que forma el cromosoma del donante y tiene capacidad de autorreproducción. Al producirse la conjugación de la bacteria, el factor *F* puede pasar a la célula recipiente femenina F^- transformándola en célula F^+ (fig. 142).

El factor sexual de las bacterias (*F*) contiene 10^5 pares de nucleótidos, lo que corresponde a un gene del fago. El factor sexual está presente en el citoplasma de la célula bacteriana F^+. Las bacterias F^-, o sea, las que no poseen factor sexual, constituyen los recipientes (véase fig. 142). Las cepas F^- no producen recombinadores. Entre las células F^+ fueron encontradas células aptas para la frecuencia de recombinación especialmente alta, siendo designadas con el símbolo *Hfr* (*high frequency of recombination*). Al producirse la conjugación de las células F^+ y F^-, con frecuencia a la última se transfiere solamente el factor sexual

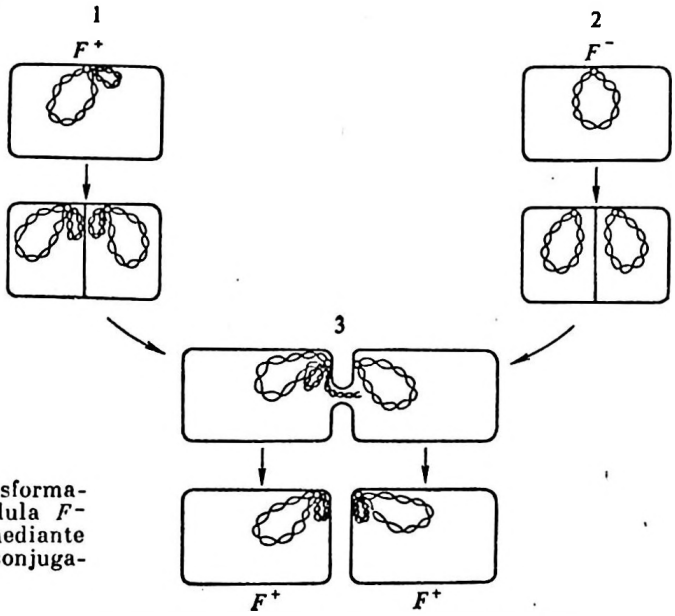


Fig. 142. Transformación de la celula F^- en célula F^+ mediante la sinapsis (conjugación)

Está representado el cromosoma de la bacteria, destacándose en negro la parte del material del DNA que constituye el factor F. *1*—células de la línea F^+; *2*—células de la línea F^-; *3*—conjugación entre F^+ y F^-, transferencia del factor F a la célula F^- después de su autorreproducción. Debajo: a la derecha se muestra la célula inicial F^+ y a la izquierda, la célula F^+ obtenida después del traslado del factor F a la célula F^- (según I. Guershkóvich)

(véase fig. 142). Sin embargo, cuando este factor, encontrándose en la célula del donante, se integra con su cromosoma, el extremo contrario del cromosoma del donante comienza a penetrar en la célula del recipiente a través del puente citoplasmático. Esta integración del factor *F* y del cromosoma es la que condiciona el surgimiento de las células *Hfr* (fig. 143). Son raros los casos (aproximadamente de 1 por 1000), cuando el traslado del cromosoma de la célula F^+ a la célula F^- es provocado por la aparición entre ellos células *Hfr* sueltas, o sea, por la integración del cromosoma y el factor *F*.

Las investigaciones del material genético en las bacterias mostraron que algunas de sus partes pueden existir tanto independientemente, como encontrarse incluidas en el cromosoma de las bacterias, formando parte de éste. Semejantes segmentos de material genético han recibido el nombre de episomas.

Por cuanto el factor sexual en las bacterias (*F*) existe o bien como parte del cromosoma o se presenta en calidad de material genético aislado, éste constituye un episoma típico de las bacterias. Cuando el material del episoma forma parte del cromosoma,

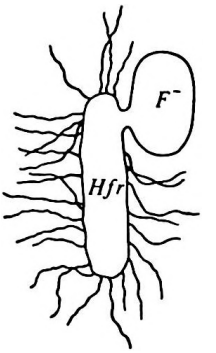


Fig. 143. Conjugación de cepas morfológicamente distintas *Hfr* y F^- (según J. Lederberg)

el material de éste se autorreproduce junto con todo el material genético del cromosoma. Por lo visto, los episomas libres pueden duplicarse más rápida o lentamente que el cromosoma o bien al igual que éste, o perder la capacidad de autorreproducción. El mecanismo por el cual surgen los episomas no está esclarecido.

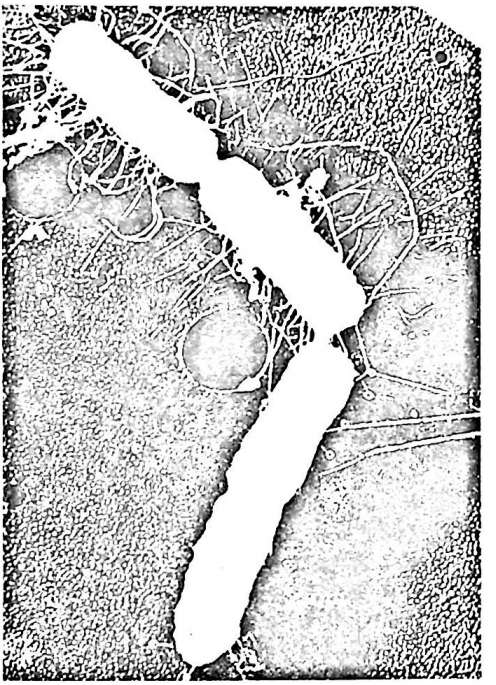


Fig. 144. Microfotografía electrónica de la conjugación entre las células *Hfr* y F^-

Los episomas en calidad de factor sexual (*F*) se trasladan de las células F^+ a las F^- en el proceso de la conjugación de los cromosomas. Inicialmente el cuadro de la sinapsis de las células de las bacterias se postulaba a base de experimentos genéticos. Después el hecho de la conjugación de las bacterias como tal fue descubierto con ayuda del microscopio electrónico. En la fig. 144 se aprecia claramente el puente citoplasmático que sirve para el traslado del cromosoma de las bacterias de una célula a la otra en el momento de la conjugación.

MECANISMO DE LA RECOMBINACIÓN EN LAS BACTERIAS. Wollman y Jacob desentrañaron el procedimiento a través del cual las bacterias intercambian genes. Esto logró realizarse mediante la interrupción del proceso de conjugación de las bacterias en diferentes momentos, después de haber comenzado ésta. Si se mezclan las células de las cepas *Hfr* y F^- en la proporción de 1 : 20, tendrá lugar un rápido contacto entre las células de estas dos cepas. Después de esto, la conjugación de las bacterias se interrumpe mecánicamente en distintos intervalos de tiempo al agitar la mezcla en el homogenizador.

Este procedimiento separa las bacterias conjugadas, y el puente que las unía se destruye, rompiéndose el filamento de DNA que pasaba de la célula *Hfr* a la F^-. Como resultado surge un cigoto que contiene un filamento de DNA de la célula F^- y parte del cromosoma proveniente de la célula *Hfr*. Estas células, a diferencia de los cigotos diploides habituales, recibieron el nombre de merocigotos.

Se descubrió que los diferentes genes se trasladan de las células bacterianas masculinas a las femeninas en distintos, y exactamente determinados momentos. La sucesión regular de entrada de distintos genes procedentes de las células *Hfr* en las células F^-, en dependencia del tiempo transcurrido desde el comienzo de la conjugación, puede representarse según Hayes de la siguiente manera:

Tiempo en minutos a partir de comenzada la conjugación	Genes que se trasladan de las células *Hfr* a las células F^-
0	no hay recombinación
8	*T*
8,5	*T L*
9	*T L Az*
11	*T L Az T*
18	*T L Az* T_2 *Lac*
25	*T L Az* T_1 *Lac Gal*

Estos datos demostraron que la penetración de los genes del donante en las células del huésped, está supeditada a una exacta secuencia temporal. El análisis se ha hecho en el sentido de que un extremo específico del cromosoma de las bacterias (donantes)

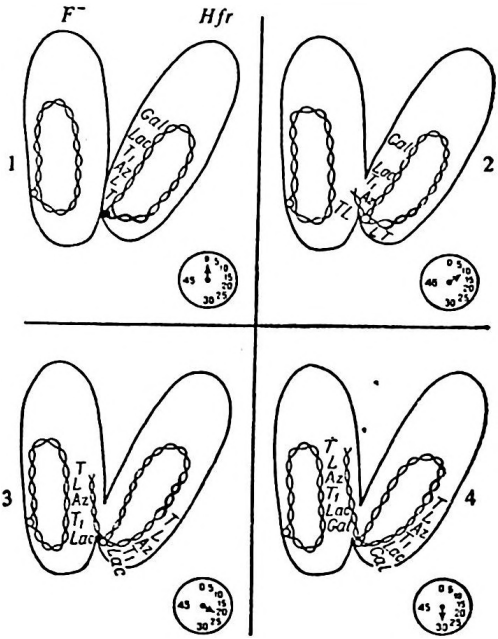


Fig. 145. Traslación del cromosoma de la célula *Hfr* a la célula F^- en *E. coli*

1—comienzo de la conjugación de las células F^- y *Hfr*. Tiempo 0 mts; *2*—traslación del segmento (*T*, *L*) del cromosoma duplicado desde la célula *Hfr* a la célula F^- en el transcurso de 10 mts.; *3*—traslación del segmento de la nueva molécula sintetizada de DNA con los genes desde *T* hasta *Lac* en el intervalo de 20 mts.; *4*—traslación del segmento de la réplica del cromosoma desde *T* hasta *Gal* transcurridos 30 mts. Se ha representado el cromosoma y con negro se destaca el factor integrado F. Gracias a la disyunción de las copias, los genes homólogos están presentes tanto en la célula donante *Hfr* como en la célula recipiente F^-

siempre es el primero que penetra en la célula del huésped, atrayendo paulatinamente aquellos genes, que se encuentran localizados a lo largo del cromosoma (fig. 145). Esta circunstancia permitió determinar el orden de los genes y la distancia entre ellos, midiéndola en este caso, a base del tiempo transcurrido desde el comienzo de la entrada a la célula del receptor (huésped) del primero y segundo genes. Resultó, que en este caso la disposición de los genes coincidió con los datos obtenidos con ayuda del análisis de recombinación.

Como vemos, al estudiarse la recombinación en las bacterias fue descubierto un cuadro comparativamente diferente con el que se presenta en las formas superiores. Aquí las células donantes transfieren a las recipientes sólo una parte del material genético. El traslado de todo el genoma constituye un fenómeno raro. Generalmente, el resultado es el surgimiento del merocigoto (fig. 145). En una determinada forma del colibacilo estos fragmentos se forman en el segmento extremo de su cromosoma, que se designa por *O* — *R* (fig. 146). Al producirse la conjugación en la célula del huésped penetra el extremo del cromosoma del donante *O* (*origion*), que es el locus guía. Tras el locus *O* se atraen poco a poco los restantes bloques de genes. El cromosoma se parte en diferentes segmentos. Al penetrar en la célula del huésped, un fragmento de una u otra dimensión crea en ésta una diploidía parcial y por

medio del entrecruzamiento los genes de los fragmentos del donante pasan al cromosoma del huésped, creando en él un nuevo genotipo recombinativo.

Como ya se señaló, la aparición de células *Hfr* es producto de la integración del factor sexual con el cromosoma de la bacteria. Al

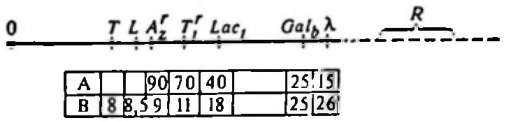


Fig. 146. Carácter regular de la traslación de los genes de la cepa *Hfr* a la F^- durante la conjugación en *E. coli*

O—extremo del cromosoma que va adelante al realizarse la sinapsis; *R*—zona donde debe ocurrir la ruptura natural del cromosoma. Traslación de los genes situados entre *O* y *R*. Con la intervención el cromosoma se rompe en cualquier punto entre *O* y *R*; *T*, *L*, etc. son genes de *E. coli*. Abajo se señala el tiempo necesario (en mts) para el traslado del gene correspondiente a la célula del receptor

producirse la salida del factor *F* del cromosoma, el primero puede llevar tras sí material génico del cromosoma. En algunos casos se puede observar el comportamiento del factor *F* por los genes del cromosoma de la bacteria adicionados a él. Y así tenemos, que en el caso de producirse la combinación *FLac*, las células portadoras del factor sexual tienen la capacidad de fermentar la lactosa. El transporte de genes del cromosoma de las bacterias recibió el nombre de sexoducción. En este caso se hace posible obtener una diploidía para distintos genes y estudiar la dominancia de los alelos.

CROMOSOMA ANULAR EN *ESCHERICHIA COLI*. MAPA GENÉTICO. Las investigaciones con el grupo de las líneas *Hfr* llevaron a Jacob y Wollman al descubrimiento de la estructura anular del cromosoma en *E. coli*. Al investigar la disposición de los genes en la traslación del cromosoma de *Hfr* a la célula del receptor, se obtuvo un cuadro de «penetración» de un anillo que pareciera desintegrado, cada vez dividido en un lugar distinto. Si se confrontan los cuatro tipos de ordenamiento de los genes en el proceso de su penetración en la célula del huésped, obtendremos el cuadro representado en la fig. 147. Las investigaciones de Cairns confirmaron el descubrimiento de Jacob y Wollman. Utilizando el método de autorradiografía Cairns llegó a la conclusión de que los cromosomas de las cepas de los recipientes (F^-), así como los de las donantes (*Hfr*) están constituidos por la molécula anular de DNA.

Hay dos métodos fundamentales para la realización del mapa de cromosomas, al producirse la conjugación en las bacterias. El primero de ellos es el diseño del mapa de los cromosomas según

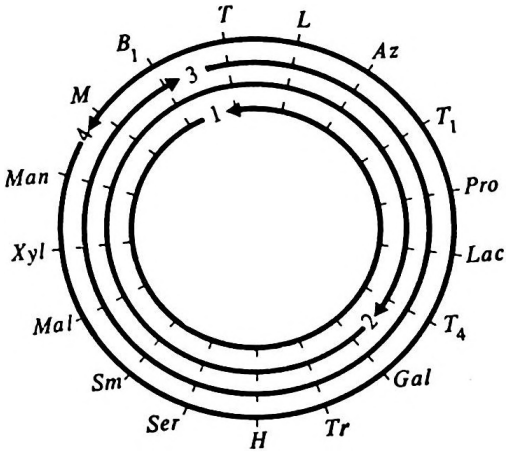


Fig. 147. La estructura anular del cromosoma de *E. coli* se infiere de los datos obtenidos en relación a los grupos lineales de enlace en una serie de cepas *Hfr*

Se muestran cromosomas de cuatro cepas que se diferencian con respecto a sus extremo que penetran en las células recipientes. La comparación de la disposición de los gene muestra que estos cuatro cromosomas son derivados de un mismo cromosoma anular que se escindió en distintas partes (según King)

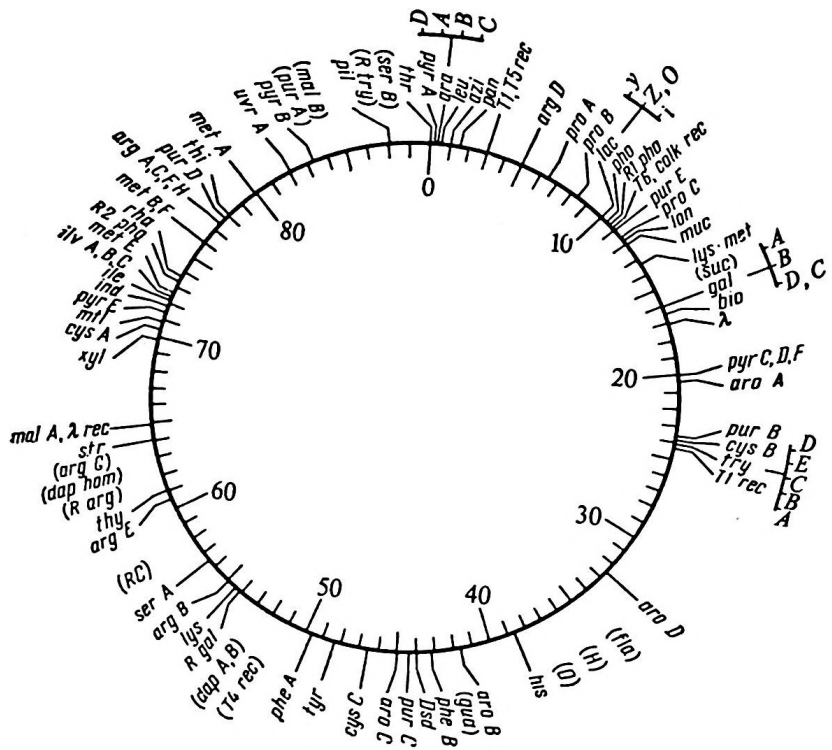


Fig. 148. Mapa genético de *E. coli*

Graduación según intervalos de un minuto. En total hay 89 mts. (según A. L. Taylor y M. S. Thoman)

el gradiente de transmisión. En este caso, pasada una hora de incubación conjunta de las células del donante y las del recipiente, se determina la cantidad absoluta de distintas recombinaciones. De esta forma se hace posible establecer el ordenamiento de los genes y las magnitudes de las distancias entre ellos. El segundo procedimiento se basa en la determinación del tiempo de traslación de los fragmentos de diferente longitud desde las células *Hfr* a la célula F^-. Interrumpiendo la conjugación mediante la agitación del cultivo mezclado, puede calcularse el tiempo necesario para la aparición de los recombinadores de acuerdo con unos u otros marcadores. Este método es efectivo para determinar las distancias entre los genes, las cuales deben ser medidas en un tiempo no menor de un minuto.

El diseño de mapas hecho por ambos métodos dan resultados coincidentes. A base de estos métodos fue confeccionado el mapa genético del cromosoma anular de *E. coli* (fig. 148).

Preguntas para discutir

12-1. Describa los caracteres más representativos de la estructura de la célula del colibacilo.

12-2. ¿Cómo fue descubierto el fenómeno de recombinación en las bacterias?

12-3. ¿Por qué el factor *F* constituye el episoma de la bacteria?

12-4. ¿Cómo surgen las células *Hfr*, que se caracterizan por su gran capacidad para el proceso de recombinación?

12-5. ¿En qué consiste el método de interrupción de la conjugación (sinapsis) en las bacterias?

12-6. ¿Se transfiere o no todo el material genético de la célula *Hfr* a la célula F^- recipiente durante el proceso de la conjugación?

12-7. ¿Qué es el merocigoto? ¿En qué consiste la diferencia entre éste y el cigoto diploide?

12-8. ¿Qué resultados fueron obtenidos mediante la utilización del procedimiento, que permite interrumpir la conjugación en las bacterias en distintos momentos después de su comienzo, para lograr la comprensión de la organización genética del cromosoma de *E. coli*?

12-9. ¿Qué fenómeno ha recibido el nombre de sexoducción en los procesos de recombinación en las bacterias?

12-10. ¿Qué principios de análisis fueron utilizados en el descubrimiento de la estructura anular del filamento de DNA en *E. coli*?

12-11. ¿Cuál es la significación del DNA y de las proteínas para las partículas de bacteriófagos? ¿Qué otros elementos de la estructura son propios de esta partícula?

12-12. ¿En qué radica la causa del surgimiento de las manchas estériles en el cultivo de las células de la bacteria de *E. coli*? ¿Qué demuestran las cuatro manchas estériles representadas en la fig. 139?

12-13. ¿En qué condiciones pueden ser detectadas las recombinaciones genéticas en los virus?

12-14. ¿Bajo qué condiciones de su estructura el DNA del fago no puede utilizar inmediatamente la polimerasa de la bacteria para la síntesis de nuevas moléculas de DNA del bacteriófago?

12-15. ¿Qué es necesario que se sintetice en la célula infectada por el RNA de los virus, antes de que comience la síntesis de moléculas de RNA del fago?

12-16. ¿Qué dimensiones poseen los pequeños virus de DNA y RNA de acuerdo con la cantidad de nucleótidos y genes?

12-17. ¿En qué consisten las pruebas acerca de que los mapas genéticos de los virus corresponden a las propiedades físicas de las moléculas de DNA?

12-18. ¿Qué particularidades descubiertas en los procesos de recombinación en los virus han recibido el nombre de interferencia negativa?

12-19. ¿Es válida o no en el caso de los virus la regla de la reciprocidad de las recombinaciones?

12-20. ¿En qué consiste la esencia del fenómeno de la heterocigosis molecular característica de algunos cromosomas recombinados en los virus?

12-21. ¿Se limita solamente a la categoría de intercambios génicos el fenómeno de recombinación en los virus?

XIII Recombinaciones genéticas en los fenómenos de transformación y transducción en las bacterias y en el proceso parasexual en los hongos

El fenómeno de la transformación puede definirse como uno de los casos de hibridización molecular, por cuanto éste consiste en el transporte de porciones de moléculas de DNA de unas bacterias a otras.

Las células que han sufrido la transformación reciben el nombre de transformadas. Las porciones de las moléculas de DNA que son liberadas de las células de las bacterias donantes y que después de la implantación cambian las propiedades genéticas de las células recipientes, son dominadas agentes transformadores.

TRANSFORMACIÓN. El fenómeno de la transformación fue descubierto por Griffith en 1928 en los neumococos (*Diplococcus pneumoniae*). Generalmente en estos organismos se presentan dos especies de colonias: lisas (*S*) y rugosas (*R*). Las grandes colonias lisas se forman por bacterias que tienen una cápsula polisacárida que las protege de la fagocitosis, por lo que son virulentas. Las bacterias que forman colonias rugosas y pequeñas no poseen esta cápsula y, por lo tanto, no son virulentas. En los experimentos de Griffith se pudo apreciar que los ratones inoculados con mezclas de células bacterianas vivas *R* y *S* muertas por el efecto del calor, se enfermaban. De los órganos de los ratones muertos se podían aislar células *S*, las cuales seguían formando iguales colonias lisas en cualquier cantidad de resiembras. De esta forma fue demostrado que las células de las bacterias poseedoras de determinados caracteres (en este caso una específica morfología de las colonias) se transformaban por la influencia de alguna sustancia contenida en las células con características contrarias. Este cambio de propiedades se transmitía de generación en generación. La naturaleza de la sustancia transformadora no quedó aclarada hasta 1944 cuando Avery y sus colaboradores demostraron que la sustancia responsable de la trans-

formación en los neumococos es el DNA. Con una serie de trabajos posteriores se demostró que el DNA conserva su actividad transformadora aún después de la más cuidadosa purificación, cuando del preparado se han separado los más pequeños rastros de proteína, RNA y otros compuestos. Así sucesivamente, las enzimas que destruyen el DNA (las desoxirribonucleasas) eliminaban también su actividad transformadora, al mismo tiempo que distintas proteasas (enzimas que destruyen las proteínas) y ribonucleasas (enzimas que destruyen el RNA) no ejercían ninguna influencia sobre la capacidad del DNA de transformar las bacterias.

Posteriormente el fenómeno de la transformación fue descubierto, además de los neumococos, en otros microorganismos: otros cocos, tanto virulentos como avirulentos, en las bacterias hemofílicas, en las bacterias de los nódulos, en una serie de bacilos esporogénicos y recientemente en las bacterias del grupo intestinal. Este fenómeno ha sido observado también en las algas verde-azules. Aparte de la transformación que tiene lugar al añadírsele a un cultivo bacteriano DNA transformador obtenido artificialmente, Ottolengi y Hotchkiss descubrieron en 1960 el llamado fenómeno de la transformación espontánea: la aparición de células "híbridas" con propiedades mezcladas en un cultivo mixto de neumococos, constituidos de organismos con algunos caracteres opuestos. Estas células surgían producto de la transformación debido a DNA liberado de las bacterias en el caldo de cultivo. El mecanismo de semejante aparición del DNA en el caldo de cultivo no está completamente aclarado. Es posible que esto constituya una simple lisis de parte de las células, no obstante, hay algunos datos que permiten deducir que se trata de una liberación regulada de un necleoide entero (recordemos que las bacterias contienen varios nucleoides bajo una misma envoltura celular, cada uno de los cuales representa una dotación completa de genes cromosómicos de la célula bacteriana). La transformación espontánea fue descubierta más tarde en toda una serie de especies de bacterias. Existen fundamentos para considerar que ésta es una de las formas de intercambio de material genético entre las bacterias en las poblaciones naturales.

El mecanismo de penetración, en la célula, del DNA transformador y sus cambios posteriores se han estudiado en varios laboratorios. Utilizando una marca radiactiva se logró demostrar que la célula bacteriana absorbía el DNA marcado y de esta forma se pudo observar la actividad del DNA dentro de la célula. Hay mucho aún por aclarar en cuanto al mismo mecanismo de absorción del DNA por la célula. Sólo una pequeña parte de las células del cultivo bacteriano, las llamadas células competentes (un pequeño porcentaje de toda la población), que aparecen solamente en una determinada fase de crecimiento del cultivo, son las que poseen la capacidad de absorber el DNA. La absorción se produce mediante una activa participación de la envoltura interior de la

célula bacteriana y, posiblemente, haga recordar un poco el proceso de la fagocitosis. Además, en la mayoría de las especies bacterianas, para que se realice una transformación, es necesaria la intervención de los llamados "factores de competencia". Estos son proteínas de bajo peso molecular o polipéptidos, que se diferencian algo en las distintas especies bacterianas, que se acumulan en el período de competencia en el caldo de cultivo y que después se absorben en las bacterias y cambian de determinado modo las propiedades de las capas superficiales de las células. Si a las células competentes se les elimina todo el caldo de cultivo, pierden la capacidad de transformación, pero nuevamente la adquieren después de que se les suministra el factor de competencia purificado.

En algunas especies de bacterias (por ejemplo, las bacterias del grupo intestinal), sólo las células tratadas con la enzima lítica lisozima y convertidas en protoplastos (así se denominan las células bacterianas carentes de pared celular y que conservan solamente la envoltura interior, o sea, la membrana citoplasmática), tienen la capacidad de absorber el DNA. Se pueden obtener protoplastos por otros métodos. La permeabilidad de las células con respecto al DNA transformador también se puede elevar después de tratarlas con una solución de cloruro de calcio y por congelamiento y descongelamiento. Es preciso decir, que los mecanismos de absorción del DNA en esta forma son completamente distintos que al comenzar el período de competencia en el cultivo bacteriano en crecimiento.

Inmediatamente después de la absorción, empiezan los cambios del DNA transformador que preceden la recombinación de éste con el cromosoma de la célula. Se ha demostrado que en algunas especies de bacterias estas transformaciones se reducen a la segmentación del DNA en fragmentos más cortos y al destrenzamiento posterior de los dos filamentos del DNA de dichos fragmentos en segmentos monofilamentosos. Más tarde, mediante mecanismos aún no esclarecidos, los fragmentos unifilamentosos se conjugan (entran en sinapsis) con los segmentos cromosómicos homólogos de la célula recipiente y sustituyen uno de los filamentos del DNA del cromosoma en el lugar correspondiente (fig. 149). De esta forma, al realizarse la sustitución, este cromosoma en una cierta extensión, presenta un filamento «propio» y uno «ajeno» de DNA. Al producirse la siguiente duplicación, tiene lugar la formación de dos nuevos filamentos, sobre la matriz «propia» y «la ajena». Los dos cromosomas formados serán completamente homocigóticos. El hecho de que en la colonia formada de bacterias transformadas, con frecuencia se halle una mezcla de células híbridas con células, que han conservado totalmente el genotipo del recipiente (si, desde luego, estas últimas no fueron eliminadas por algún u otro factor selectivo), refleja este proceso.

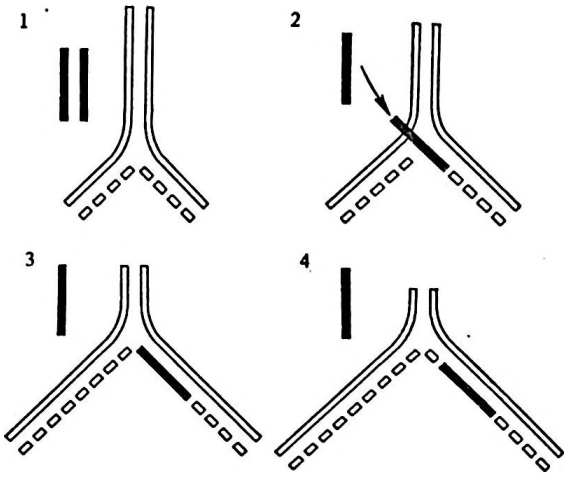


Fig. 149. Modelo del probable mecanismo que garantiza el fenómeno de la transformación genética

1—se destaca en negro el DNA transformador de los filamentos que penetra en la célula de la bacteria. Los rectángulos claros muestran los filamentos de nucleótidos sintetizándose y el DNA del huésped autorreproduciéndose; *2*—comienzo del proceso de penetración del DNA transformador de un filamento en la estructura de dos filamentos de la nueva molécula de DNA del huésped. La implantación del DNA extraño supone la complementación entre el DNA de la bacteria y del DNA transformador, aunque sólo sea en una sección limitada; *3*—implantación total del DNA transformador en la molécula de DNA del huésped; *4*—continúa la síntesis de moléculas de DNA del huésped después de la implantación del segmento transformado de DNA ajeno (según Guershkóvich)

La transformación en las bacterias puede ocurrir no sólo dentro de los marcos de una especie, sino también entre distintas de ellas. Sin embargo, cuanto más alejada esté una especie de la otra en sentido taxonómico, tanto menor es la frecuencia de transformación interespecífica. A base de trabajos especiales fue demostrado que en este caso la frecuencia de transformación está completamente determinada por la capacidad de las moléculas unifilamentosas de DNA del donante y del receptor de renaturalizar una con otra, o sea, la capacidad de las moléculas de DNA simples de formar entre sí complejos de dos filamentos a expensas de enlaces de hidrógeno. A su vez, la capacidad para formar complejos de filamentos dobles depende del grado de homología del DNA, es decir, de la similitud de la composición nucleótida y de la secuencia de la disposición de los nucleótidos en la molécula de DNA. En los cromosomas de las bacterias se distinguen grupos de genes más «antiguos» y más «nuevos». A los genes más «antiguos» pertenecen, por ejemplo, los que codifican la formación de RNA ribosómico y a «los nuevos», los del metabolismo de aminoácidos. Entre los genes «antiguos» de distintas especies bacterianas hay mucha más similitud en relación al grado de homología, que entre los genes «nuevos». Por lo visto, los genes «antiguos» están sometidos en menor medida a los cambios y transformaciones

en el proceso evolutivo. Conforme a esto, la transformación interespecífica por medio del DNA de los genes «antiguos» se realiza más exitosamente, que a través del DNA de los genes «nuevos».

Así tenemos que la formación de híbridos entre las especies bacterianas lo suficientemente distantes una de otra, puede prevenirse, particularmente en la fase de la sinapsis de los fragmentos de los cromosomas. La misma absorción del DNA por la célula competente no depende en su mayor parte del hecho de que ese DNA pertenezca o no a la especie de bacterias a tratar. Por lo visto la excepción la constituyen solamente las bacterias hemofílicas que por causas desconocidas absorben mejor el DNA homólogo. Las células competentes de otras especies de bacterias absorben igualmente bien cualquier DNA, tanto el bacteriano, el viral como el aislado por las células de animales y plantas. Lo esencial lo constituyen las dimensiones de los fragmentos del DNA donante y en qué estado se encuentra ese DNA, con la estructura uni o bifilamentosa. Cuanto más largo sea el fragmento de la molécula de DNA, tanto mejor es absorbido por la célula. En los procedimientos habituales de aislamiento y purificación del DNA transformador, su peso molecular es igual a 5×10^6 — $— 1 \times 10^7$ daltones. Recordemos que el peso molecular de un cromosoma entera de una célula bacteriana es igual a $2 — 4 \times 10^9$ daltones. De esta forma, al producirse la transformación la célula competente absorbe menos del 1% de todo el genoma de la célula donante (dada la condición de que el DNA añadido a las células competentes se encuentre en una concentración insaturada menos de 1μg/ml). Es por esto que los mapas genéticos construidos a base de la transformación, reflejan la consecuencia de disposición de los genes sólo en segmentos muy pequeños del cromosoma bacteriano.

Si el DNA es partido por unos u otros efectos (por ejemplo, el ultrasonido) en fragmentos menores de 3×10^5, este DNA no es absorbido por la célula y, por consiguiente, pierde su actividad biológica. El DNA unifilamentoso se absorbe mal por las células competentes en presencia de pH neutro. En presencia de pH ácido la absorción de este mismo DNA se lleva a cabo un poco mejor y, por consiguiente, su actividad transformadora crece.

La destrucción del DNA del donante en pequeños fragmentos puede producirse también en la célula bajo la acción de algunas desoxirribonucleasas. Así, la transformación del grupo de bacterias intestinales no se pudo lograr durante mucho tiempo debido a que en estas bacterias la actividad de la exonucleasa es grande. Solamente en mutantes, en los cuales la actividad de esta enzima decreció considerablemente, fue posible obtener transformadores. Las enzimas de este tipo, denominadas nucleasas restrictivas, por lo visto, están «llamadas» a proteger la célula de la penetración en ella de información genética «no deseada». El nivel de actividad de estas enzimas en distintas especies de bacterias es

diferente y el carácter selectivo de su acción puede variar mucho en dependencia de una serie de particularidades del DNA del donante, del estado fisiológico de la célula, etc.

Con la transformación tienen relación ciertos fenómenos que se basan también en la absorción del DNA por la célula bacteriana. Es necesario mencionar, en primer lugar, el fenómeno de la transfección. En este caso las células competentes absorben el DNA aislado artificialmente del fago. Como consecuencia en la célula empieza el desarrollo del fago con la ulterior muerte de la bacteria y la liberación de las partículas maduras del fago. Es interesante el hecho de que, mediante este proceso «antinatural» se logren contaminar las bacterias resistentes a la «habitual» infección por un fago (por ejemplo, los mutantes e incluso bacterias de otra especie totalmente distinta, en las cuales el fago no es absorbido). Y así, por métodos semejantes puede introducirse en las bacterias el DNA del episoma y de esta forma infectar la bacteria con éste. Es incluso posible la transferencia de episomas «híbridos», «construidos» de los fragmentos del DNA episómico de dos especies diferentes mediante distintas manipulaciones bioquímicas. Un ejemplo representa el hecho de que a través de la transformación, se logró la contaminación del colibacilo con un episoma «artificial» compuesto en parte del DNA del episoma de *E. coli* y en otra del DNA del episoma estafilocócico. Este episoma funcionó y se duplicó en la célula transformada. Recientemente se realizaron una serie de intentos de introducir en las bacterias, por transformación, DNA aislado a partir de organismos multicelulares de manera tal, que posteriormente este DNA comenzará a funcionar de una u otra forma.

Y así vemos. que la transformación puede servir no sólo como un medio de hibridización de las bacterias y de trazado de sus mapas genéticos, sino también como método para la introducción de DNA del más diverso origen en una célula bacteriana viva.

RECOMBINACIONES GENÉTICAS EN LOS FENÓMENOS DE TRANSDUCCIÓN. El fenómeno de la transducción constituye un método muy particular de recombinación, relacionado con la capacidad de los fagos moderados de transferir determinados caracteres de la bacteria donante a las bacterias recipientes, que son infectadas por el fago una vez reproducido éste en la célula del donante. Son conocidos dos clases fundamentales de bacteriófagos: los virulentos y los moderados. Los primeros siempre provocan la lisis de las células de las bacterias atacadas por ellos. Por consiguiente, estos fagos sólo existen o en estado vegetativo (reproducción dentro de la célula) o en estado maduro (estado metabolólicamente inerte fuera de la célula). Los bacteriófagos moderados, además de tener la capacidad de existir en formas vegetativas e inertes, pueden también existir en estado de profagos. En el último caso el genoma del bacterió-

fago se fija al cromosoma de la bacteria y adquiere la capacidad de reproducirse con ella sincrónicamente. Las bacterias portadoras de profagos se llaman lisogénicas. La transformación de un fago moderado al estado de profago es llamado lisogenización. Las bacterias lisogénicas contienen sólo el profago, no encontrándose en ellas partículas infecciosas de fagos. No obstante, a veces el profago abandona el cromosoma de las bacterias, pasando al estado vegetativo. En este caso en la célula surgen partículas maduras de fagos que provocan su lisis. Al irradiar un cultivo lisogénico con rayos ultravioletas o al tratarlo con otros agentes inductores, este proceso puede provocarse artificialmente. Un interés particular tiene la llamada inducción cigótica en la que el papel de agente inductor está desempeñado por la penetración en la célula no lisogénica F^- de un cromosoma con un profago proveniente de la célula *Hfr*. En estas condiciones puede observarse a veces la liberación del profago. Sin embargo, esto se logra sólo en el caso en que el profago provenga de la célula *Hfr*, y la célula recipiente sea no lisogénica F^-. En el cruzamiento de una célula lisogénica *Hfr* con una lisogénica F^- la inducción, como norma, no se produce, lo que nos muestra que el profago pasa a la fase vegetativa sólo en aquellos casos, cuando proveniente la célula *Hfr* se introduce en el citoplasma de una célula no lisogénica F^-, que no había sido sometida a la acción del profago. Y así tenemos, que las bacterias lisogénicas contienen una sustancia inducida por el profago integrado a éstas. Esta sustancia controla la conservación del profago en el cromosoma.

Se ha determinado que el profago está constituido por una molécula de DNA de 10^5 nucleótidos que puede contener alrededor de 100 genes y que es precisamente igual a todo el cromosoma del bacteriófago.

Así pues, el material genético de los fagos moderados incluyendo también el fago lambda, que ha sido detalladamente estudiado, constituye un episoma yendo a parar a la célula de las bacterias. Este material puede permancer en estado libre y entonces, al reproducirse, provoca lisis de la bacteria. En el caso en que el material del fago se integra al cromosoma de la bacteria, éste se convierte en profago y se autorreproduce como una parte de la célula bacteriana sin producir su destrución.

Resulta que cuando el profago se libera del cromosoma de la bacteria y se convierte nuevamente en episoma, puede llevar consigo parte del cromosoma de la bacteria. Al producirse una nueva infección la parte del cromosoma de la bacteria arrancada por el fago, resulta capaz de ser transferida al cromosoma de un nuevo recipiente.

El fenómeno de la transducción fue descubierto en 1952 por N. Zinder y J. Lederberg al realizar experimentos con bacteria *Salmonella typhimurium* que provoca la fiebre tifoidea en los ratones. Se utilizó una cepa lisogénica de bacterias cuyos cromo-

romas incluyen material de fagos. Como habíamos señalado anteriormente, sabemos que de bacterias lisogénicas puede extraerse un agente filtrable que transfiere las cualidades de la cepa donante al nuevo huésped. En los primeros experimentos se utilizó como «portador» el fago *P*22. Este fago se lleva consigo parte del material genético del cromosoma al cual él había sido anteriormente incorporado.

El fago *P*22 resultó estar en condiciones de llevar a efecto la transducción de muchos, incluso de todos los genes de *Salmonella*. Generalmente, al realizarse la transducción, son transferidos genes aislados, pero puede suceder que el segmento trasladado contenga dos o unos cuantos genes. El análisis de los casos de transducción múltiple permitió diseñar los mapas de las secciones de los cromosomas de *Salmonella*. En general el cromosoma de *Salmonella* resultó ser un anillo cerrado al igual que en *E. coli*, e incluso en muchas porciones los mapas genéticos de *Salmonella* y el colibacilo coincidían.

El caso del fago *P*22 se incluye dentro de la categoría de transducción general. Este profago tiene la capacidad de implantarse en distintas secciones del cromosoma de la bacteria. Esto asegura la posibilidad de la transferencia de diversos loci del cromosoma del huésped. No obstante, en la mayoría de los casos el profago ocupa un lugar bien determinado en el cromosoma de la bacteria recipiente; entonces tiene lugar una transducción limitada. Se ha demostrado que el fago lambda ocupa el mismo sitio en el cromosoma de la bacteria cuando pasa al estado de profago, lo que da como consecuencia que la transducción la sufre una región específica y limitada del cromosoma bacteriano, representada por el locus *Gal*, que determina la capacidad de fermentar la galactosa.

En la mayoría de los experimentos realizados sobre transducción de auxótrofos a protótrofos, cuando el fago introduce en la célula del auxótrofo el correspondiente gene del cromosoma del protótrofo (fig. 150), se observa una total transducción (fig. 150, *2*). No obstante, en ocasiones surge una colonia no habitual de protótrofos, sino mucho menor, aproximadamente 10 veces más pequeña, que la normal. En este caso presenciamos la transducción abortiva. Este fenómeno consiste en que la partícula de fago junto con el material de la transducción desprendido por ella, no se traslada al cromosoma del huésped, sino que se mantiene en calidad de episoma, el cual puede perder con rapidez la capacidad de autorreproducción, trayendo como consecuencia que las primeras células surgidas después de la realización de la transducción bajo la influencia del gene prototrófico se desarrolla normalmente, apareciendo después de la pérdida del episoma células incapaces de sobrevivir en el medio mínimo (véase fig. 150, *3*).

La introducción del material genético traído por el fago en el cromosoma de la bacteria se realiza por un mecanismo similar al

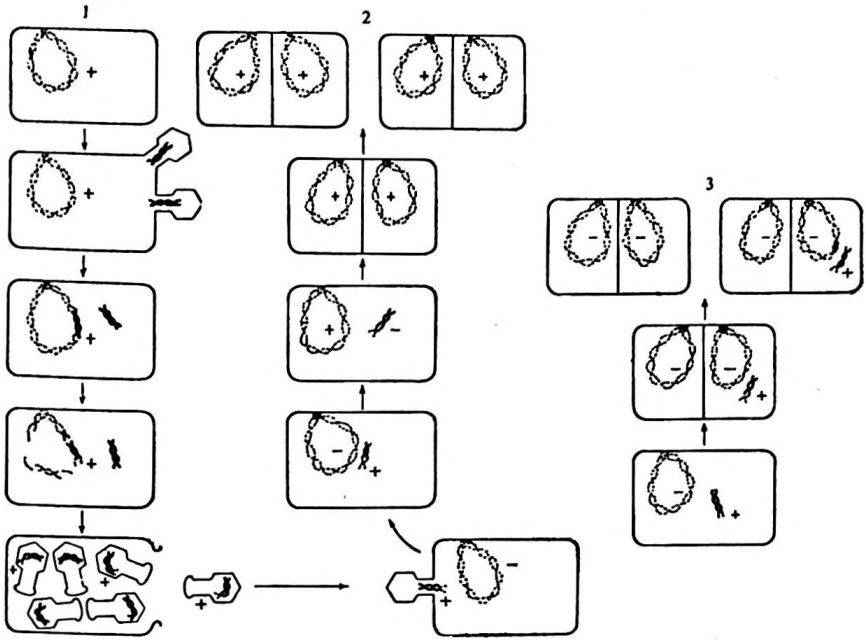


Fig. 150. Esquema de la transducción de un fago moderado

1—formación del fago transductor; *2*—proceso de transducción total; *3*—transducción abortiva
Se muestra el cromosoma de la bacteria, resaltando en negro el DNA del fago; el alelo normal del protótrofo se indica con (+) y el alelo correspondiente del auxótrofo, con (—) (según Guershkóvich)

del entrecruzamiento. Esto se deduce partiendo del hecho de que al producirse la transducción se observa no una simple adición de material ajeno en el cromosoma de la bacteria receptora, sino que ocurre un intercambio y un homólogo determinado se libera del cromosoma del recipiente, cediéndole el lugar al homólogo del material aportado por el fago. Así vemos, que al producirse la transducción del gene que controla la síntesis de antígenos flagelares, en la descendencia de la célula que sufrió la transducción desaparecen aquellos antígenos que inicialmente le eran propios. Esto demuestra que su cromosoma perdió el gene correspondiente en el proceso de la transducción. Los fagos transducidos en este proceso pueden transferir parte de su material genético al cromosoma del nuevo huésped formando como resultado partículas defectuosas de fagos.

RECOMBINACIÓN GENÉTICA EN LAS CONDICIONES DEL PROCESO PARASEXUAL EN LOS HONGOS. Muchas especies de hongos tales como *Penici-*

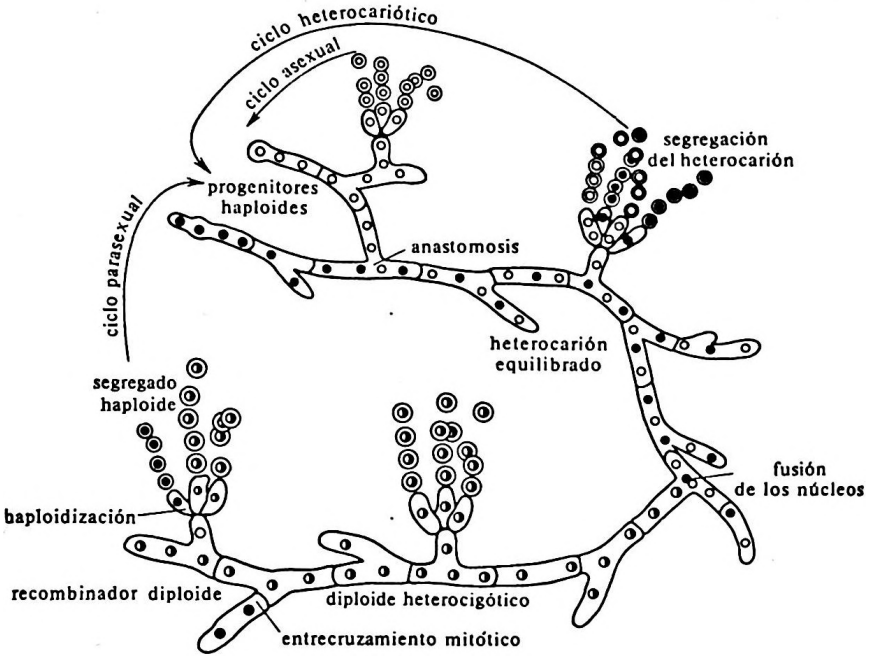


Fig. 151. Ciclo parasexual en los hongos imperfectos de *Penicillium*

llium y el *Aspergilus*, habiendo perdido el estadio sexual de desarrollo, existen en estado haploide. No obstante, en éstos la recombinación tiene amplia difusión gracias à la existencia del proceso parasexual (fig. 151). Su transcurso está relacionado con: 1) la formación de heterocariones, o sea, formas en las que los núcleos y el citoplasma tienen distintas fuentes de origen; 2) el surgimiento del núcleo diploide en el micelio heterocariótico; 3) segregación de los recombinadores en el proceso mitótico de los núcleos diploides. Los heterocariones se forman debido a que las hifas de distintos micelios, al unirse mediante puentes citoplasmáticos, permiten la entrada en ellas de núcleos extraños. Para el estudio de los heterocariones se utilizan mutaciones bioquímicas. Los micelios con deficiencia bioquímica de metionina no pueden vivir en un medio mínimo. Lo mismo sucede con los micelios que presentan deficiencia de lisina. En la mezcla de estas líneas surgen micelios prototróficos auténticos en cuanto a su capacidad para vivir en un medio mínimo, que resultan ser los heterocariones asociando los núcleos de micelios que han sufrido distintas mutaciones. En tales heterocariones surge la diheterocigosis que produce un fenotipo normal en las condiciones del heterocarión.

En presencia de la esporogénesis, en estado de heterocarión diheterocigótico complejo, en las formas que presentan conidios uninucleados (*Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus nidulans*) un núcleo paterno puede ir a parar en alguno de ellos, lo que conduce a segregación de los tipos paternos según una u otra deficiencia bioquímica. En lo que respecta a las formas poseedoras de conidios multinucleados (*Asp. sojae*, *Asp. oryzae*) el estado heterocariótico puede conservarse en éstas aún efectuada la reproducción por esporas. En los micelios del heterocarión tiene lugar la fusión de núcleos de distinta procedencia, formándose un núcleo diploide heterocigótico con una frecuencia menor que 1×10^{-6}. Al aparecer semejante núcleo, en una célula esporogénica, da lugar a una cadena de esporas diploides (véase fig. 151). Estas esporas forman micelios prototróficos, mientras que esporas haploides se transforman en un micelio, que presenta las propiedades de uno u otro progenitor auxotrófico.

En el transcurso de las mitosis en el núcleo diploide tiene lugar un entrecruzamiento somático entre los cromosomas homólogos, apareciendo los recombinadores, cuya frecuencia de surgimiento es aproximadamente 10 000 veces menor que la que caracteriza el proceso sexual. En este proceso se forman recombinadores tanto diploides como haploides. Los primeros originan nuevos haploides llamados segregados de segundo orden, con lo que finaliza el ciclo parasexual (véase fig. 151).

Un análisis detallado mostró que el fenómeno de recombinación en los hongos imperfectos es bastante complejo, estando relacionado con el entrecruzamiento mitótico, la no disyunción y la haploidización. El entrecruzamiento mitótico en cuanto a su mecanismo, no se diferencia en nada del meiótico. A pesar de ello, después de su realización, aparecen los clones homocigóticos de las células somáticas. En este caso el entrecruzamiento también ocurre en la fase de los cuatro filamentos entre las cromátidas no fraternas en el momento en que estas cuatro aún se mantienen unidas por los centrómeros (fig. 152). Después del intercambio, la separación de las cromátidas puede realizarse de tal modo, que las dos células hijas sean homocigóticas con respecto a distintos genes situados más distantes del centrómero (fig. 152, *a*). Un núcleo será homocigótico para la parte de los genes pertenecientes a uno de los progenitores (*ddee*) y el otro núcleo lo será con respecto a los genes del otro progenitor (*DDEE*). Sin embargo, al tener lugar otra forma de disyunción, las cromátidas que sufrieron entrecruzamiento, al ir a parar en el núcleo, siguen conservando su heterocigosis inicial (fig. 152, *b*). En estas condiciones los genes más alejados del centrómero tienen las mayores probabilidades de pasar al estado homocigótico y los genes más cercanos al centrómero raras veces, aprovechan esta posibilidad. De esta forma, es posible elaborar el mapa de los cromosomas en cada brazo del cromosoma.

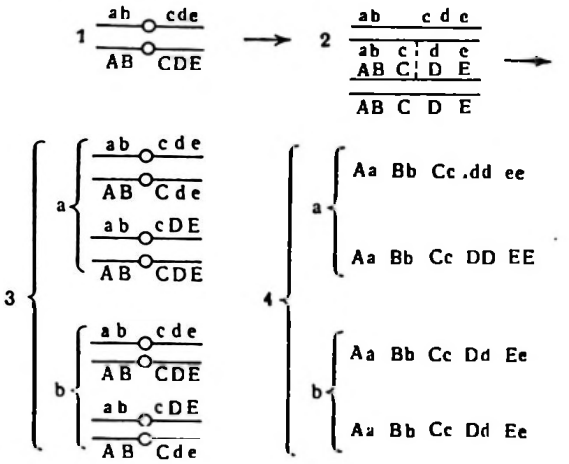


Fig. 152. Entrecruzamiento mitótico en los hongos imperfectos

1—dos homólogos (un par de cromosomas) de un diploide heterocigótico; *2*—conjugación (sinapsis) de cromosomas y entrecruzamiento entre las cromátidas no fraternas; *3*—distribución de las cromátidas en las células hijas; *4*—genotipos de células hijas

Durante la formación de algunas formas diploides aparece la homocigosis con respecto a todos los genes localizados en un cromosoma dado. Teniendo en cuenta estos recombinadores diploides que surgieron mediante la haploidización con la consiguiente duplicación de los cromosomas, puede determinarse a qué grupo dado de enlace pertenecen los genes, independientemente de su relación con el centrómero.

Al producirse la haploidización, los genes pertenecientes a un cromosoma muestran un enlace completo, mientras que los genes de distintos cromosomas se combinan independientemente. Así, por ejemplo, el heterocigoto $abc\left|\begin{smallmatrix}a\,b\,c\\+\,+\,+\end{smallmatrix}\right.\ def\left|\begin{smallmatrix}d\,e\,f\\+\,+\,+\end{smallmatrix}\right.$ durante la haploidización en ausencia del entrecruzamiento y al realizarse la combinación libre de los cromosomas de distintos pares, forma cuatro tipos de haploides:

$$abc - def;\quad abc - \begin{smallmatrix}d\,e\,f\\+\,+\,+\end{smallmatrix};\quad \begin{smallmatrix}a\,b\,c\\+\,+\,+\end{smallmatrix} - def;\quad \begin{smallmatrix}a\,b\,c\\+\,+\,+\end{smallmatrix} - \begin{smallmatrix}d\,e\,f\\+\,+\,+\end{smallmatrix}.$$

En estas condiciones es posible la determinación exacta de los grupos de enlace.

El diseño del mapa de los genes con ayuda de las recombinaciones mitóticas (entrecruzamiento somático) ha sido el más detalladamente realizado en el ascomiceto, *Asp. nidulans*. En este caso, junto con la segregación mitótica se produce un ciclo sexual, lo que ha permitido controlar los datos con respecto al entrecruzamiento mitótico. Gracias a los datos obtenidos sobre

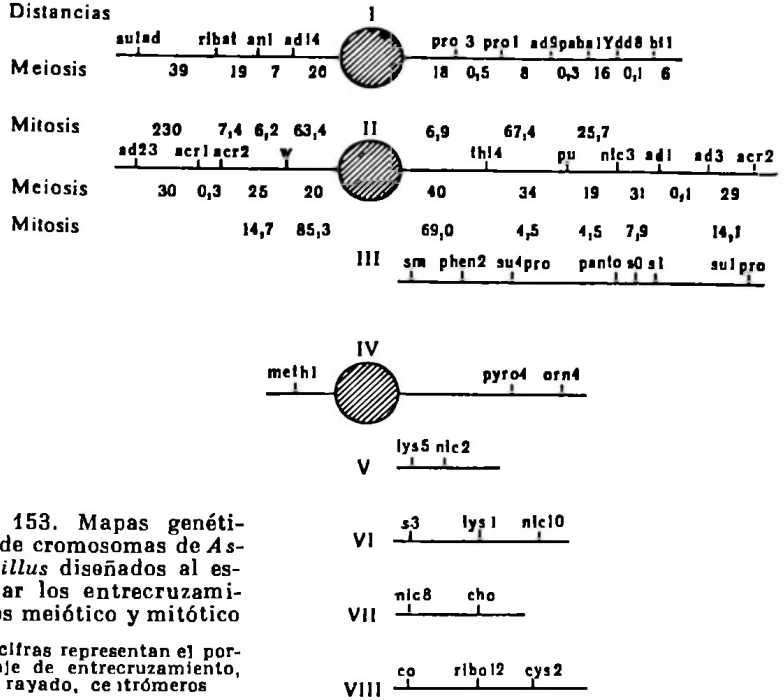


Fig. 153. Mapas genéticos de cromosomas de *Aspergillus* diseñados al estudiar los entrecruzamientos meiótico y mitótico

Las cifras representan el porcentaje de entrecruzamiento, y el rayado, centrómeros

el entrecruzamiento en la meiosis de este hongo, fueron descubiertos ocho grupos de enlace. Fue demostrado que los resultados de ambos métodos coincidieron (fig. 153). Esto abrió el camino para el análisis de las recombinaciones en los hongos carentes del ciclo sexual. En *Asp. niger* fueron descubiertos seis grupos de enlace y elaborado mapas para más de 30 genes, etc.

La elaboración de los métodos para estudio del entrecruzamiento mitótico y la segregación incorporó al análisis genético de las recombinaciones a un complejo grupo de seres vivos carentes del ciclo sexual. Estos métodos tienen una gran significación para la genética de los tejidos somáticos de los organismos superiores.

Preguntas para discutir

13-1. ¿En qué consiste el fenómeno de la transformación? ¿De qué manera las formas no virulentas de los neumococos pueden ser transformadas en virulentas hereditariamente estables?

13-2. ¿Qué material celular es el responsable en el fenómeno de la transformación? ¿Constituye o no la transformación un mecanismo natural de recombinaciones de los microorganismos en la Naturaleza?

13-3. ¿Qué definición general puede dársele al fenómeno de la transformación?

13-4. ¿Qué células han recibido el nombre de transformadas?

13-5. ¿Qué es el agente transformador y cuáles son sus dimensiones moleculares?

13-6. ¿Qué factores anulan la actividad transformadora del DNA?

13-7. ¿Cuáles son los posibles mecanismos de introducción del agente transformador en el cromosoma del recipiente?

13-8. ¿En qué se diferencian los fagos moderados de los fagos infecciosos habituales?

13-9. ¿En qué consiste el fenómeno de la lisogenia? ¿Constituye o no el fago moderado al penetrar en la bacteria un episoma? ¿Qué es un profago?

13-10. ¿Es posible o no provocar el paso del profago al estado vegetativo y cuáles serían los factores que inducirían este proceso? ¿Qué es la inducción cigótica? ¿Cómo es posible demostrar, que las bacterias lisogénicas contienen una sustancia que controla la conservación del profago en el cromosoma?

13-11. Describa los fundamentos del fenómeno de la transducción.

13-12. ¿Por qué es posible afirmar que la implantación de material de un cromosoma ajeno durante la transducción, se realiza por un mecanismo del tipo de entrecruzamiento?

13-13. ¿Qué es la transducción general, la limitada, la total y la abortiva?

13-14. Caracterice el proceso parasexual en los hongos.

13-15. ¿Cómo se forma el heterocarión? ¿Cuáles son sus particularidades genéticas?

13-16. ¿Cuáles son los principios mediante los cuales se realizan las recombinaciones en los heterocariones diploides heterocigóticos?

13-17. ¿Qué papel juegan, en los hongos imperfectos, el entrecruzamiento mitótico, la no disyunción y la haploidización para la realización de las recombinaciones?

13-18. ¿De qué forma se puede medir la distancia de un gene al centrómero en un heterocarión diploide heterocigótico?

13-19. ¿Qué proporciona la haploidización para la determinación de los grupos de enlace en los hongos imperfectos?

13-20. ¿Por qué los métodos de análisis recombinativo basados en el entrecruzamiento mitótico y la haploidización, tienen gran importancia para los tejidos somáticos de los organismos superiores?

XIV Mecanismos moleculares de la recombinación genética y conversión de los genes

El fenómeno del entrecruzamiento fue detalladamente estudiado con ayuda de los métodos genéticos y citológicos. Sin embargo, después de que fue demostrado que la variación, incluso de una base del DNA conduce a la mutación, se hizo evidente que sólo un mecanismo muy sutil, actuando al nivel molecular, es capaz de garantizar que el cromosoma quede intacto después del intercambio de sus segmentos con su homólogo. En tales condiciones, parecía que el punto de vista antiguo, según el cual el intercambio está relacionado con la ruptura de los homólogos en fragmentos y con su resustitución posterior, reflejaba sólo aproximadamente la esencia del entrecruzamiento. Este punto de vista recibió el nombre de hipótesis «ruptura — reunión».

Fue desarrollada una nueva hipótesis de acuerdo con la cual, el entrecruzamiento tiene lugar en el momento de la síntesis del DNA. Se supuso una variación de matrices en el proceso de duplicación del DNA de tal manera, que la formación de la cromátida se produce inicialmente a partir de un segmento de una de las cromátidas y después pasa a copiar de la otra. Esta hipótesis recibió el nombre de «hipótesis de copiado con matriz variable» («*copy-choice*»). Se trató de resolver este problema experimentalmente y como resultado se obtuvo que la antigua hipótesis «ruptura—reunión» era cierta.

PRUEBAS A FAVOR DE LA HIPÓTESIS «RUPTURA—REUNIÓN». La diferencia principal de las hipótesis tiene su base en el reconocimiento de que el intercambio de segmentos entre las cromátidas es independiente de los procesos de autorreproducción de los cromosomas o se explica por las particularidades de los procesos de síntesis del DNA. La hipótesis «copy-choice» se desarrolló a base de los trabajos sobre recombinación en las bacterias y fagos. Finalmente el experimen-

to con los fagos lambda proporcionó una demostración directa de que las recombinaciones se producen a causa de la ruptura y la reunión de los cromosomas iniciales. El fago lambda tiene el cromosoma en forma de molécula de DNA con espiral doble y con una longitud de alrededor de 17 μ. En los casos en que una célula bacteriana es sometida a una infección múltiple por parte de los fagos lambda, algunos de los cuales comienzan a autorreproducirse y otros se quedan sin duplicarse.

Sin embargo, estas últimas se revisten de una envoltura proteica y en el momento de la lisis de la célula junto con las demás partículas salen de la misma. Esta diferencia en el comportamiento del DNA de diferentes partículas de fagos fue la que permitió resolver el problema acerca de la naturaleza de la recombinación genética. En el experimento realizado con este objetivo, las células de las bacterias se infectaban con partículas «pesadas» de fagos, las cuales fueron obtenidas después de su reproducción en células bacterianas que fueron cultivadas en un medio que contenía isótopos pesados de carbono (C^{13}) y de nitrógeno (N^{15}). Después de este procedimiento los fagos «pesados» se multiplicaron en células de bacterias comunes. En tales condiciones el peso de su DNA debido a la aurorreproducción semiconservativa y después por medio de la recombinación con nuevas partículas libres de los isótopos pesados, debe disminuirse dos veces o más. Las partículas de fagos se separaron por centrifugación en un gradiente de densidad de cloruro de cesio. Resultó que junto con las partículas de diferentes densidades, habían las recombinadas con una densidad de partículas igual a la de los fagos «pesados» iniciales. Esto demostró que la recombinación tuvo lugar entre dos partículas pesadas que no tomaron parte en el proceso de autorreproducción. La distribución de las densidades de las demás partículas recombinadas refutó la hipótesis «*copy-choice*» y coincidió totalmente con lo esperado según la hipótesis «ruptura—reunión». Los mismos resultados se obtuvieron en los experimentos con los fagos *T2* y *T4*.

MECANISMOS MOLECULARES DEL ENTRECRUZAMIENTO. Las investigaciones sobre la naturaleza del entrecruzamiento demostraron que este fenómeno se efectúa por medio de la interacción física de las moléculas homólogas de DNA. Su curso se regula mediante procesos enzimáticos. El propio acto del intercambio de los segmentos homólogos entre los cromosomas tiene lugar a través de rupturas físicas y la nueva reunión de las moléculas de DNA.

Un posible esquema de este proceso se representa en la fig. 154. En el intercambio entran dos moléculas homólogas de DNA (*1*). La etapa de la ruptura por la endonucleasa de algunos filamentos en lugares cercanos de las dos moléculas homólogas de DNA (*2*) sirve como proceso inicial para el intercambio. En presencia de polimerasa en uno de los extremos del fragmento (flecha, *3*) tiene

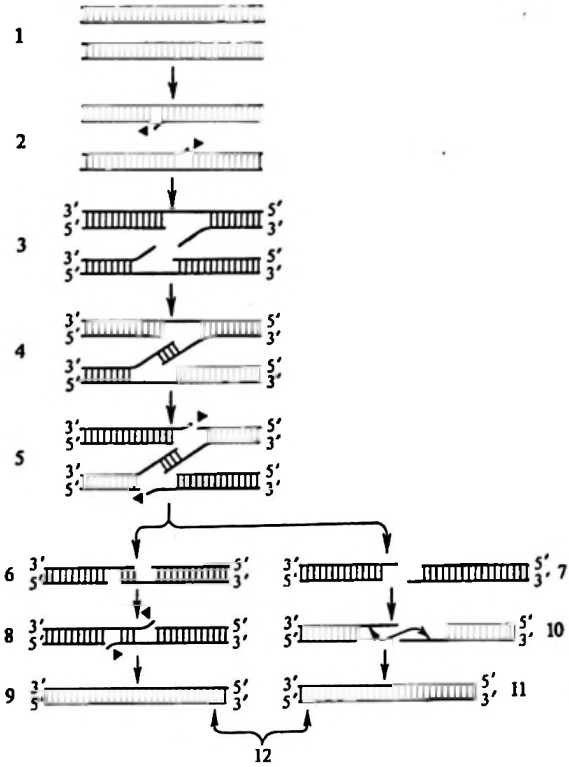


Fig. 154. Esquema molecular del entrecruzamiento entre dos moléculas homólogas de DNA de dos filamentos (1—12)
Explicación en el texto

lugar la prolongación del filamento. Esto conduce a la limitación del extremo del otro fragmento y a la formación de la «cola» unifilamentosa. Los extremos libres debido a su homología se unen por medio de enlaces de hidrógeno (*4*). En los lugares de separación de los extremos en el filamento opuesto tiene lugar el corte por la acción de la endonucleasa (*5*). Esto conlleva a la aparición de los fragmentos en doble espiral que en un caso están unidos (*6*) y en otro, libres (*7*). En el primer caso el DNA-polimerasa resustituye la brecha (*8*) para que después la ligasa «cose» los filamentos, garantizando la aparición de un cromosoma entrecruzado (*cross-over*) estable (*9*). Inicialmente, en el caso de los fragmentos libres, las endonucleasas aumentan la brecha (*10*), lo que da lugar a la formación de grandes superficies complementarias unifilamentosas (*11*). La unión de los fragmentos en estas regiones, la liquidación de las brechas y el trabajo de las ligasas en este caso también conduce a la aparición de cromosomas intercambiados (*cross-over*) (*12*).

La acción de las enzimas de reparación garantiza la exactitud molecular del entrecruzamiento por lo cual los cromosomas intercambiados después de su resustitución a partir de fragmentos contienen la totalidad de las moléculas iniciales de DNA. Esto, claro está, no excluye fallos muy poco frecuentes en el trabajo de los mecanismos bioquímicos del entrecruzamiento. Como veremos más abajo el análisis de estos fallos confirmó en gran medida la justeza del esquema descrito del mecanismo molecular de entrecruzamiento.

El modelo expuesto del mecanismo molecular de recombinación demuestra que en este proceso también existen rupturas de algunos polinucleótidos en la molécula de DNA, el intercambio de segmentos; degradación de segmentos duplicados de los polinucleótidos y síntesis local del DNA en los segmentos faltantes de la cadena. Por lo visto, todos estos procesos se encuentran bajo

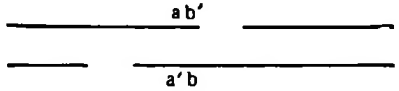


Fig. 155. Heterocigoto molecular en condiciones de entrecruzamiento incompleto

el control enzimático. A favor de este punto de vista habla el hecho de la aparición de semejante mutación en *E. coli*, la cual disminuyó la frecuencia de recombinación en 1000 veces. Su acción bloquea cierto eslabón necesario para la realización del proceso de intercambio entre los cromosomas. Lo más probable es que ocurra un bloqueo de la síntesis de la proteína de la enzima, que toma parte en la recombinación. Se ha establecido igualmente, que el mutante de *E. coli* con la capacidad para la recombinación alterada (*rec*$^-$) posee a la vez una elevada sensibilidad a la luz ultravioleta. Esto último, como se sabe, está relacionado con la pérdida de las enzimas de reparación que garantizan la reconstrucción de las moléculas de DNA a través de la ruptura de las cadenas en los segmentos con los dímeros de timina. En todos los fenómenos de recombinación, el entrecruzamiento, que por mucho tiempo constituyó un enigma, cada vez más estrechamente se relaciona con el sistema bioquímico estructural de la célula, compartiendo la suerte, en este sentido, con la teoría de las mutaciones.

Los principios generales del modelo molecular del entrecruzamiento expuesto, tienen un fuerte apoyo en los hechos acerca de la naturaleza de los heterocigotos moleculares. La existencia de la no complementación dentro de la molécula de DNA, lo que constituye la esencia de la heterocigosis molecular, surge en el pro-

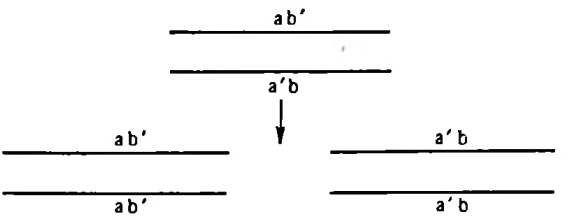


Fig. 156. Descendencia de mosaico de un heterocigoto molecular en condiciones de duplicación semiconservativa

ceso del entrecruzamiento. El surgimiento de esta heteroduplicidad puede entenderse si se considera que las «colas» unifilamentosas de los fragmentos se conjugan entre sí, al producirse la ruptura de la molécula de DNA (véase fig. 154), introduciendo en la espiral doble las bases no complementadas (fig. 155).

El fenómeno de la heterocigosis molecular en los fagos fue descubierto por A. D. Hershey y M. Chase en el año 1951. Semejante partícula aislada de fago poseedora de una molécula de DNA da una descendencia de mosaico (fig. 156).

CONVERSIÓN DE LOS GENES. En el año 1928 H. Kniep, analizando la segregación tetrádica en la *Neurospora*, encontró una desviación de la proporción esperada 1 : 1. Los heterocigotos a^+a, en ocasiones, en vez de formar esporas regulares del tipo $1a^+ : 1a$, producían esporas en la relación $3a^+ : 1a$ ó $1a^+ : 3a$ y con menor frecuencia. $4a^+ : 0a$ ó $0a^+ : 4a$.

El término «conversión» fue introducido en el año 1930 por H. Winkler. El supuso que en los fundamentos de la conversión hay mutaciones dirigidas en los heterocigotos. En los años de 1944 a 1953 C. C. Lindegren confirmó el fenómeno de la conversión en sus experimentos con las levaduras.

En el año 1955 H. K. Mitchell descubrió la relación del fenómeno de la conversión de los genes con el entrecruzamiento, demostrando que la recombinación intergénica puede ser no recíproca. Según la opinión de Mitchell el mecanismo de este fenómeno se diferencia marcadamente de la realización del entrecruzamiento clásico.

Por lo visto, en el caso de la conversión de los genes tiene lugar la interdependencia, entre el cruzamiento y las reparaciones en presencia de heterocigosis molecular. En la fig. 157 se muestra que el cromosoma no recíproco según el gene B tiene una estructura $AB^+C^+D^+$, que surge a cuenta de la corrección del heterocigoto molecular. La base no complementada B se arranca y después la

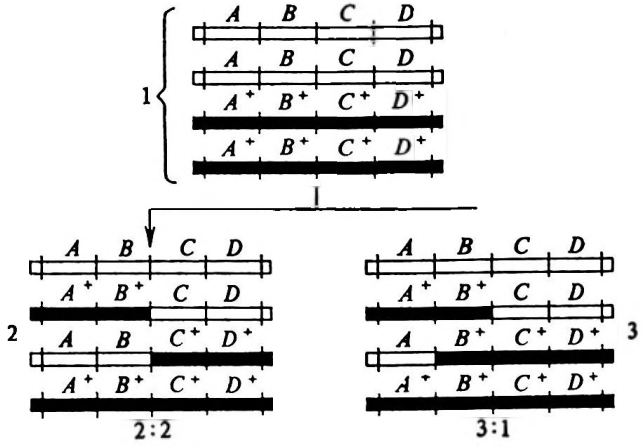


Fig. 157. Recombinaciones recíproca y no recíproca como resultado del entrecruzamiento

1—tétrada en la meiosis de la célula inicial; *2*, *3*—resultado del entrecruzamiento; *2*—recombinación recíproca de la segregación según la fórmula 2 : 2, entrecruzamiento corriente; *3*—recombinación no recíproca, segregación según la fórmula 3 : 1, conversión de los genes

brecha se tapa según la matriz B^+. Como resultado surge la recombinación no recíproca que da el cromosoma $AB^+C^+D^+$.

Bajo la influencia de la corrección molecular el alelo B da la impresión de que se transforma en el alelo B^+. En un tiempo H. Winkler presupuso para este caso la realización de mutaciones dirigidas durante las cuales el paso de un alelo a otro sucede como si se indujera por el estado heterocigótico del locus B^+/B. En realidad, los mecanismos moleculares de corrección, basados en la reparación de la escisión a través de la heterocigosis molecular garantizan la comprensión del fenómeno de la conversión de los genes que por tanto tiempo fue un enigma.

ENTRECRUZAMIENTO Y MUTACIONES. El proceso del entrecruzamiento resultó ser un complejo fenómeno bioquímico relacionado con la ruptura de las cadenas del DNA, con la reparación de la escisión, la heterocigosis molecular y con la conversión de los genes. Una serie de particularidades del entrecruzamiento lo hacen, además, un inductor de mutaciones.

La restitución de las brechas requiere que tengan lugar los procesos de síntesis no replicativa. En este caso cualquier fallo de la síntesis conlleva a la variación en la composión de los nucleótidos, que induce a la aparición de las mutaciones. Este fenó-

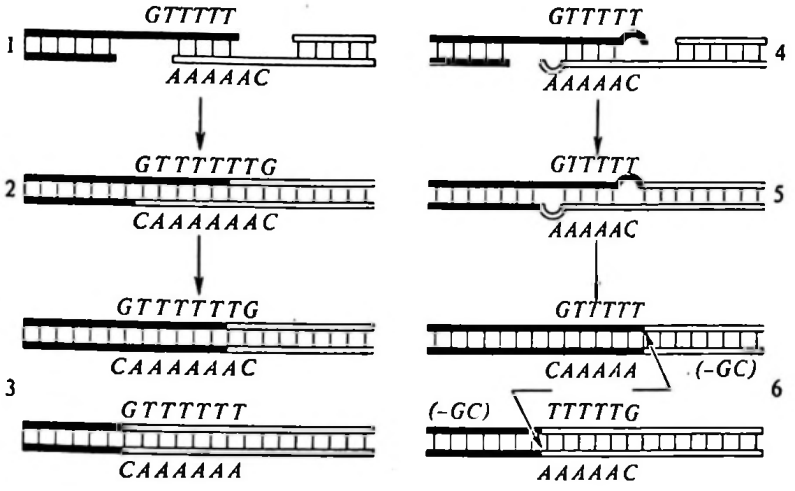


Fig. 158. Inserción y deleción del par de bases en presencia de repeticiones en el lugar del entrecruzamiento

1—apareamiento fallido de las regiones monofilamentosas homólogas contentivo de 5*A* y 5*T* aumentando el cromosoma en un par de bases; *2*—heteroduplo contentivo de inserción; *3*—duplicación del heteroduplo que da dos cromosomas con pares idénticos *AT*; *4*—apareamiento fallido que reduce el cromosoma en un par; *5*—heteroduplo con deleciones en ambos filamentos; *6*—duplicación que da dos cromosomas que incluyen las deleciones del par *GC* en diferentes extremos de las repeticiones

meno ocurre raras veces, pero estadísticamente es perfectamente perceptible.

Una fuente notable de mutaciones pueden ser los apareamientos fallidos de los segmentos unifilamentosos de los fragmentos cuando se produce la unión de la estructura de los cromosomas intercambiados. En este caso la causa puede estar dada por la acumulación local de las repeticiones de los homólogos o el apareamiento de los segmentos unifilamentosos parcialmente homólogos. Por ejemplo, en presencia de seis repeticiones de los pares *AT* y de su arribo a un segmento final unifilamentoso del fragmento, es posible que se presenten fallos de apareamiento que conducen a las inserciones o deleciones. La inserción se produce en el caso en que el error de apareamiento en una base hace estirar la molécula biespiral de DNA en una base (fig. 158, *1*, *2*). La duplicación de tal estructura da moléculas hijas en ambos casos poseedoras de la inserción del par *AT* (*3*). La pérdida del par de bases surge, cuando el fallo en el apareamiento en una repetición acorta el cromosoma intercambiado (*4*). Surge un heteroduplicado (*5*), que contiene dos bases fallidamente apareadas *GA* y *TC*. La replicación de este heteroduplo da una molécula hija de DNA con deleción del par de bases *GC* en el extremo derecho de las repeti-

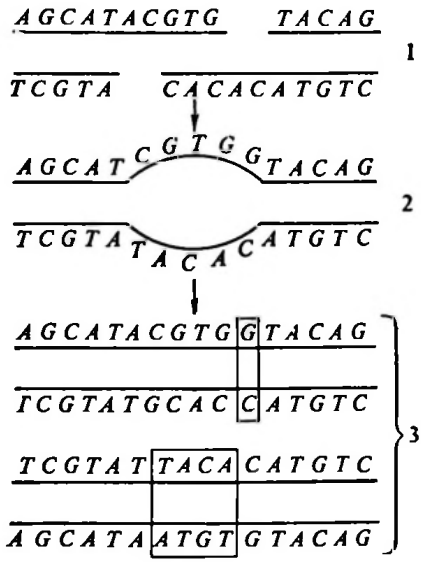


Fig. 159. Inserciones de las bases en presencia de una homología parcial de fragmentos de los segmentos unifilamentosos en el entrecruzamiento

1—apareamiento fallido de las bases; *2*—heteroduplo para cuatro pares de bases; *3*—duplicación del heteroduplo que da la inserción de un par *GC* en un cromosoma (arriba) e inserción de pares *TA*, *AT*, *CG*, *AT* (abajo)

ciones (molécula superior en la figura 158, *6*) y otra molécula con la deleción del par de *GC* en el extremo izquierdo de las repeticiones (abajo, fig. 158, *6*).

En las investigaciones realizadas en el fago *T4* se demostró que la alta frecuencia de las mutaciones de la enzima lisozima está relacionada con la existencia de las repeticiones de los pares *AT* en el gene que codifica la síntesis de esta enzima. Cuando se aparean, los segmentos parcialmente homólogos unifilamentos de los fragmentos entrecruzados se presenta una variación mayor en la estructura del segmento local de DNA. En este caso el apareamiento fallido interesa a todo un bloque de bases (fig. 159, *1*). Después de la reunión de los fragmentos se forma el heteroduplo según el bloque de las bases (fig. 159, *2*). La duplicación del heteroduplo da dos moléculas hijas: una con la inserción del par *GC* (molécula superior, fig. 159, *3*) y la segunda con la inserción del segmento *TA*, *AT*, *GC* y *AT* (abajo, fig. 159, *3*). En ambos casos mencionados tiene lugar un entrecruzamiento desigual al nivel molecular. Cuando los genes están tan cercanos, que tienen la posibilidad de aparearse por error, los cromosomas entrecruzados pueden sufrir pérdidas e inserciones de genes completos o de una parte significativa de sus secciones.

Ha sido demostrado que los genes que codifican en el hombre las cadenas β y δ de la hemoglobina, se encuentran uno al lado del otro en el cromosoma. En las investigaciones realizadas en la familia Lepore se encontraron cadenas complejas que están for-

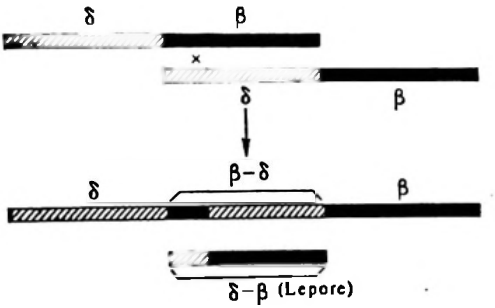


Fig. 160. Surgimiento del gene de la hemoglobina de Lepore como resultado del entrecruzamiento cuando hay un apareamiento fallido de los pares de bases de loci β y δ de la hemoglobina humana

madas parcialmente de segmentos de la cadena β y de la cadena δ. Estos polipéptidos surgieron a causa de un entrecruzamiento desigual del apareamiento fallido del gene β con el gene δ. Como resultado se produjo la unión de las partes correspondientes de los genes que codifican algunos segmentos en la sucesión de los aminoácidos (fig. 160).

Preguntas para discutir

14-1. ¿Cuáles son las dos hipótesis fundamentales sobre la naturaleza de las recombinaciones en los homólogos?

14-2. ¿En qué consisten las pruebas a favor de la hipótesis «ruptura—reunión»?

14-3. ¿En qué principios se basa la moderna hipótesis molecular sobre la naturaleza del entrecruzamiento?

14-4. ¿Qué importancia tienen las enzimas de la reparación oscura tales como endonucleasa, ligasa y polimerasa en los procesos de entrecruzamiento?

14-5. ¿Qué garantiza la exactitud molecular del intercambio de los segmentos homólogos de los cromosomas durante el entrecruzamiento, como resultado de lo cual después de la reunión de los fragmentos, los cromosomas entrecruzados repiten la estructura de las moléculas iniciales de DNA?

14-6. ¿Cómo puede entenderse el surgimiento de los heterocigotos moleculares que surgen en el entrecruzamiento?

14-7. ¿En qué consiste el fenómeno de la conversión de los genes? ¿Qué hipótesis explicativa de la conversión génica fue elaborada por Winkler?

14-8. ¿En qué consistió el descubrimiento de Mitchell, quien encontró un nuevo enfoque en el estudio de la conversión de los genes?

14-9. ¿De qué forma la hipótesis de la corrección del heteroduplo en los heterocigotos moleculares explica el fenómeno de la corrección de los genes?

14-10. ¿Qué particularidades del proceso de entrecruzamiento lo hacen inductor de las mutaciones?

14-11. ¿En qué consiste la alteración del apareamiento de los segmentos unifilamentosos de los fragmentos entrecruzados, cuando hay repeticiones en ellos? ¿Bajo qué condiciones, como resultado de estos fallos, surgen las inserciones y bajo cuáles, las deleciones en los cromosomas reunidos entrecruzados?

14-12. ¿Qué errores, en el apareamiento de los segmentos unifilamentosos de los fragmentos entrecruzados, llevan a la inserción de los bloques génicos en los cromosomas reunidos entrecruzados?

XV Genética bioquímica

La Genética bioquímica moderna se ocupa de todos los aspectos relacionados con la existencia y acción de los genes. En un sentido más estricto podemos decir que la Genética bioquímica estudia el control genético sobre el mecanismo de las reacciones bioquímicas.

La causa de la regularidad y la secuencia de los procesos y la velocidad de éstos se radica, en primer lugar, en la acción de las enzimas (proteínas). La herencia es una reproducción por generaciones de un tipo similar de metabolismo lo que se consigue gracias al control sobre la bioquímica de las enzimas por parte de los genes.

GENES Y ENZIMAS. G. W. Beadle y E. L. Tatum enunciaron la tesis «un gene—una enzima» que determinó la relación de los genes con las enzimas y supuso que la esencia de la influencia de los genes sobre el metabolismo estriba en el hecho de que cada uno de los genes determina la formación de determinada enzima específica.

Para crecer, los microorganismos necesitan fuentes de carbono, nitrógeno y sustancias minerales de las cuales ellos sintetizan los aminoácidos, nucleótidos, lípidos y otros compuestos. En el caso en que la célula no posea la capacidad de síntesis de determinada sustancia, ella puede vivir obteniéndola del exterior en forma terminada. Apoyándose en estos datos, primeramente en la *Neurospora* y después en muchos otros organismos, fueron obtenidas las llamadas mutaciones bioquímicas. Estas últimas, en la mayoría de los casos, privaban la célula de su capacidad de sintetizar una u otra sustancia. Los organismos que son capaces de sintetizar las sustancias, partiendo de una limitada cantidad de compuestos simples y que, por lo tanto, se desarrollan en un medio llamado «mínimo», recibieron el nombre de protótrofos. En lo que se refiere a los mutantes bioquímicos, éstos son capaces de subsistir

sólo cuando se añade al medio aquella sustancia la cual no pueden sintetizar. Teniendo en cuenta esta exigencia de sustancias hechas añadidas desde el exterior, estas mutaciones comenzaron a llamarse auxótrofos. El método para determinar los auxótrofos se muestra en la fig. 161.

En la *Neurospora* fueron aislados 380 mutantes bioquímicos auxotróficos (fig. 162). Estos auxótrofos carecen de la capacidad de sintetizar determinados aminoácidos, vitaminas y bases púrica y pirimídica. Se determinó que la base de estos cambios la consti-

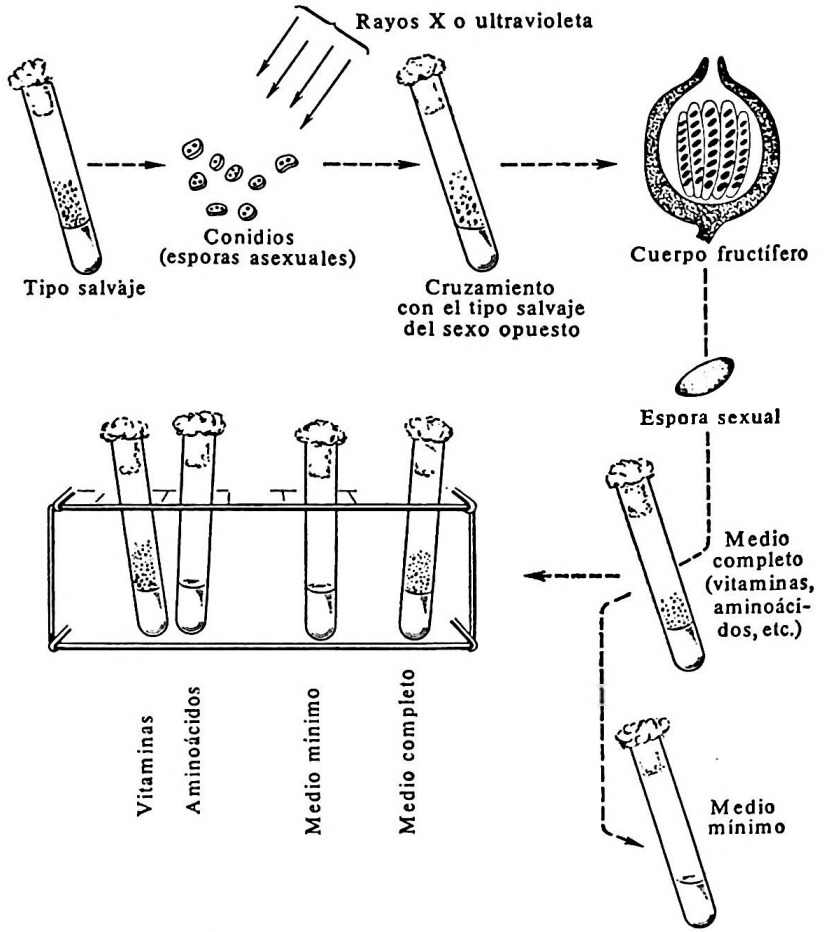


Fig. 161. Método para detectar los mutantes bioquímicos en *Neurospora*

Los mutantes son incapaces de vivir en el medio mínimo, pero al añadir aminoácidos o vitaminas crecen (según Beadle)

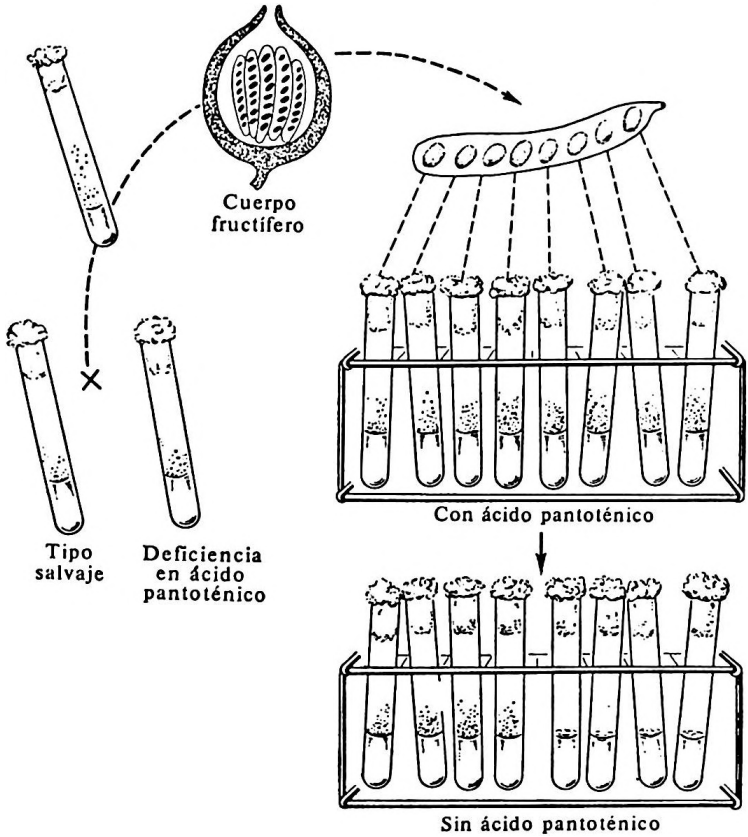


Fig. 162. Método para determinar la herencia de los mutantes bioquímicos en *Neurospora*

Los conidios se trasladan del medio, conteniendo la sustancia a investigar (en este caso, ácido pantoténico) al medio sin ésta. La segregación se ve en la fila de probetas de abajo (según Beadle)

tuyen mutaciones de más de 100 genes localizados en los más disímiles lugares de los siete cromosomas de la *Neurospora*. Como ejemplo de la complejidad que presenta el bloqueo genético de diversas etapas de la síntesis, nos detendremos en los bloques genéticos durante la síntesis del aminoácido arginina. En los experimentos se obtuvieron cerca de 50 mutantes auxotróficos de la *Neurospora* incapaces de sintetizar la arginina. Sin embargo, cada mutante requirió, para su crecimiento, la adición al medio de diferentes sustancias precursoras de la arginina: unos mutantes crecieron en un medio con citrulina, otros con ornitina, los ter-

ceros con ácido glutámico, arginina y prolina. Todos los 50 mutantes según sus demandas de distintos aditivos al medio, fueron divididos en cinco grupos (tabla 12). La necesidad de diferentes aditivos para los distintos auxótrofos a base de variados precursores de la arginina, demuestra que cada mutación inhíbe una etapa

Tabla 12

Grupos de mutantes auxotróficos de la Neurospora, los cuales se diferencian por sus capacidades para crecer cuando se les añade arginina o alguno de sus precursores en el medio de cultivo

Grupo	Arginina	Citrulina	Ornitina	Prolina	Acido glutámico
1	+	—	—	—	—
2	+	+	—	—	—
3	+	+	+	—	—
4	+	+	+	+	—
5	+	+	+	+	+

Símbolos convencionales: + crecimiento; — ausencia de crecimiento

diferente de biosíntesis de la arginina. En un caso se infringió el eslabón final, que conlleva a la aparición de la arginina, en otro la mutación bloquea la formación de la citrulina, en tercero de la ornitina, después de la prolina y finalmente del ácido glutámico. Cada reacción química se cataliza por una enzima específica. Esto demuestra que en cada caso las mutaciones bloquean la formación de su enzima específica. Esto último se confirma totalmente mediante el análisis de los extractos celulares procedentes de diferentes líneas auxotróficas mutantes de la *Neurospora*. Aquí, en cada caso particular faltaba la enzima (proteína) específica para la reacción que se controla por el gene en cuestión en la cadena de biosíntesis de la arginina.

La acción de los genes en la cadena de la biosíntesis de la arginina puede mostrarse simplificadamente de la forma siguiente:

Acido glutámico — Prolina — Ornitina — Citrulina — Arginina
gene 1 gene 2 gene 3 gene 4

En realidad, la cantidad de reacciones en esta cadena es mucho mayor. En la fig. 163 se muestra el ciclo de la arginina en la *Neurospora*, en el cual entra también la síntesis de la ornitina. Aquí se ha tenido en cuenta el carácter cíclico de varias etapas metabólicas, ya que después de la desintegración de una parte de la arginina bajo la acción de arginasa, la ornitina producida se incluye nuevamente en el ciclo de biosíntesis.

La pérdida de la capacidad de inducir la síntesis de las proteínas enzimáticas o la disminución de esta facultad recibió el nombre de bloque genético. Este último puede ser total o parcial.

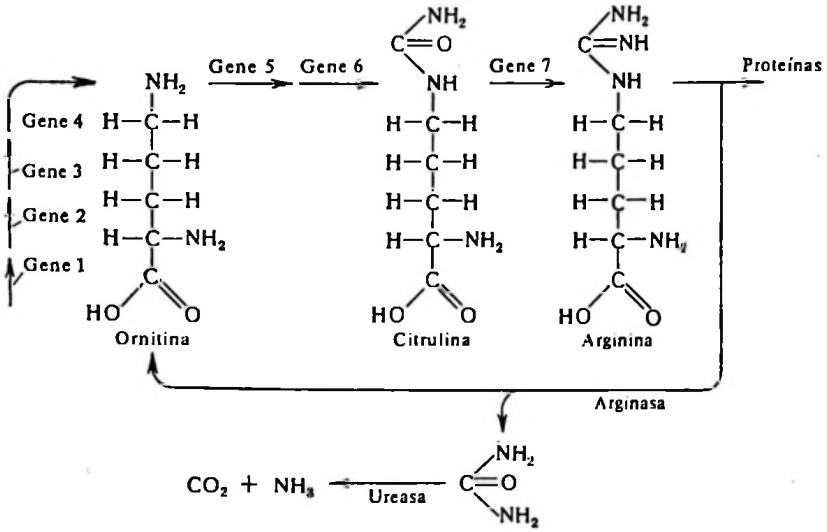


Fig. 163. Acción de siete diferentes genes mutantes sobre la biosíntesis de la arginina en *Neurospora*

El moho, en el cual ocurre la mutación del gene *7*, es incapaz de transformar la citrulina en arginina y sólo puede existir añadiendo arginina al medio. Las mutaciones de los genes *5* y *6* evitan la transformación de la ornitina en citrulina. Cuando hay mutaciones de los genes *1*, *2*, *3*, *4* la síntesis de la ornitina se bloquea (según Beadle)

Frecuentemente en las células mutante o en el medio de cultivo se acumulan sustancias precursoras que se forman en el eslabón del bloque, después de lo cual el proceso de conversión se detiene.

Cabe señalar que el primer caso descrito de mutación bioquímica fue la de la enfermedad conocida por el nombre de fenilcetonuria en el ser humano. Este descubrimiento fue realizado por A. E. Garrod en 1902.

La fenilcetonuria es provocada por la alteración del metabolismo de la fenilalanina y la tirosina (fig. 164). La primera etapa en este metabolismo está relacionada con la conversión de la fenilalanina en tirosina (fig. 164, *1*), la cual se efectúa bajo el efecto de una enzima específica. La tirosina, bajo la acción de otra enzima (fig. 164, *2*), se transforma en 3,4-dioxifenilalanina (*DOPA*) que es precursor de la hormona adrenalina y la noradrenalina y el pigmento melanina (fig. 164, *3*, *4*). La tirosina, además, sirve de precursor de las hormonas tiroxina y la triyodotirosina (fig. 164, *5*). En presencia de exceso de tirosina surge el ácido homogentísico (fig. 164, *8*, *9*). Las mutaciones que alteran la síntesis de las correspondientes enzimas, bloquean el metabolismo de la fenilalanina y de la tirosina en diferentes etapas, lo que

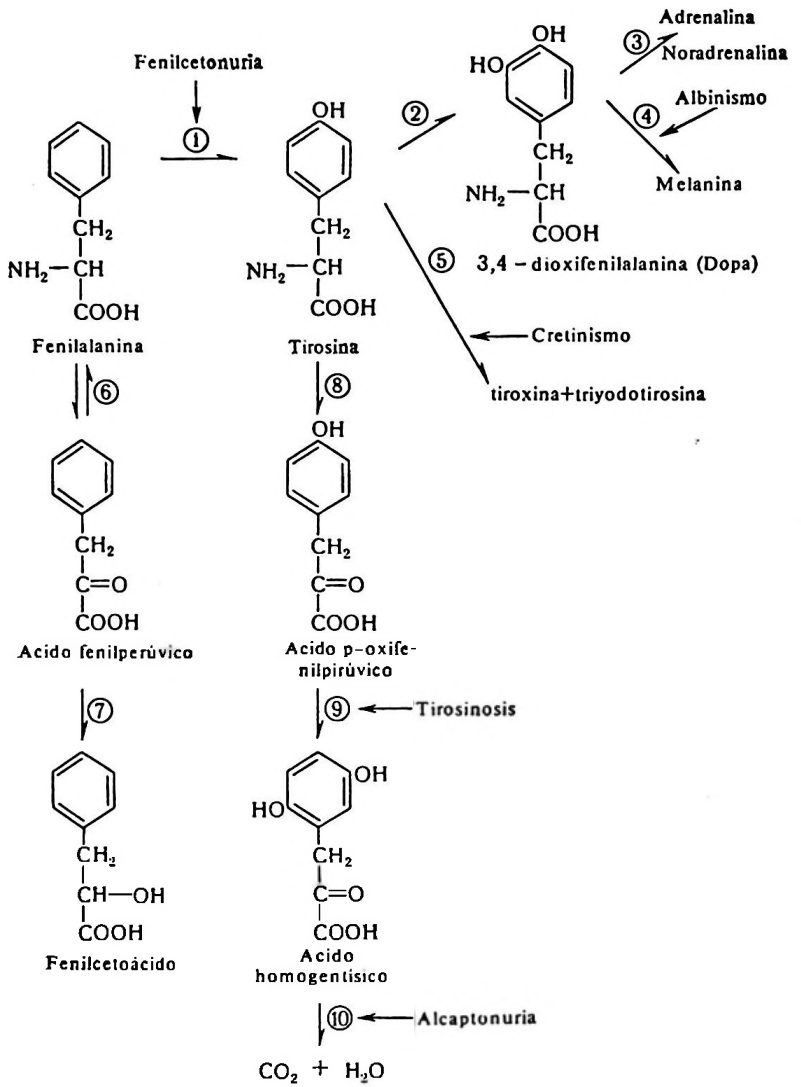


Fig. 164. Control genético sobre el metabolismo de la fenilalanina en el hombre

Los bloques genéticos de distintas etapas de biosíntesis producen la aparición de las enfermedades siguientes: fenilcetonuria, albinismo, cretinismo, tirosinosis y alcaptonuria en correspondencia con los bloques de las reacciones *1*, *4*, *5*, *9* y *10*

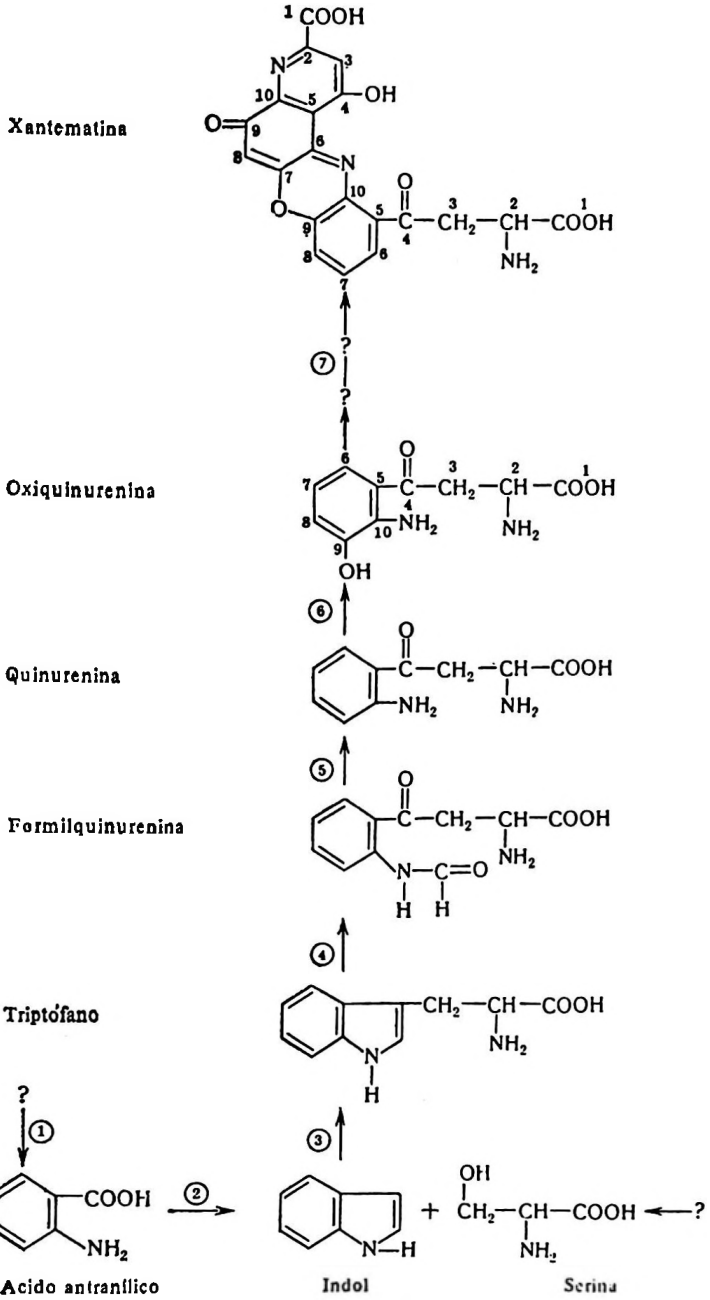


Fig. 165. Metabolismo del triptófano

Fórmulas estructurales del triptófano y sus derivados. Las moléculas de xantomatina surge por la condensación de dos moléculas *N*-oxiquinurenina. Las cifras encerradas en círculos (1—7) son los bloques genéticos surgidos en la mutación

conlleva a la aparición de enfermedades congénitas en el ser humano. La fenilalanina se convierte, además, (fig. 164, *6*, *7*) en ácido fenilpirúvico y otros ácidos fenílicos.

La fenilcetonuria es una grave enfermedad recesivo-congénita que surge cuando se bloquea el paso de la fenilalanina a tirosina. Este bloque provoca la acumulación de fenilalanina en el plasma sanguíneo, en el líquido cerebrospinal y en la orina. Esta última contiene también derivados de fenilalanina. Los enfermos sufren de deficiencia mental, provocada por la acumulación de fenilalanina y sus derivados en el cerebro. Una limitación considerable de la fenilalanina en la dieta, comenzando desde la edad más temprana, disminuye la manifestación de esta enfermedad. La alcaptonuria está relacionada con el hecho de que en el hígado de los pacientes falta la enzima oxidasa del ácido homogentísico, lo cual provoca la acumulación del ácido. La orina de los enfermos de alcaptonuria se ennegrece al contacto con el aire, debido a la presencia del ácido homogentísico. Las enfermedades tirosinosas son provocadas por la mutación del gene que responde por la enzima que inhibe la formación del ácido homogentísico. El cretinismo se presenta como una marcada detención del desarrollo mental y físico provocado por la alteración en la conversión de la tirosina. El albinismo está relacionado con la pérdida de la capacidad de sintetizar pigmento melanótico. Habitualmente el pigmento se forma de Dopa en los melanocitos. Estas células existen en la piel de los albinos, pero están privadas de pigmento.

La genética del metabolismo del aminoácido triptófano y sus derivados está estudiada en una serie de organismos. La *Neurospora* sintetiza el triptófano en las cadenas de su biosíntesis (fig. 165). La *Neurospora* tiene tres grupos de mutantes relacionados con la síntesis del triptófano. El primer grupo de mutantes bloquea la síntesis del triptófano de manera que los auxótrofos pueden vivir solamente si se añade indol o ácido antranílico al medio. En este caso el bloque bioquímico actúa ante la formación del ácido antranílico (fig. 165, *1*). El segundo grupo de mutantes bloquea el paso del ácido antranílico a indol (fig. 165, *2*). Los mutantes del tercer grupo bloquean el paso del indol a triptófano (fig. 165, *3*). Todos los mutantes de este grupo están privados de la enzima triptofansintetasa, que cataliza la reacción de enlace del indol con el aminoácido serina. Utilizando la triptofansintetasa de células normales de la *Neurospora* en calidad de antígeno e inyectándola a conejos, se obtuvieron anticuerpos que neutralizaban totalmente la actividad de la enzima. Podemos ver (fig. 166, *a*) que el tratamiento de la *Neurospora* con el suero de un conejo normal no influye en la síntesis del triptófano. El último eslabón de esta síntesis, o lo que es lo mismo, la transformación del indol en triptófano tiene lugar bajo la acción de la triptofansintetasa no variable (fig. 166, *b*). Es otra la situación cuando utilizamos el suero de un conejo inmunizado (véase fig. 166, *d*). En este caso

los anticuerpos del suero bloquean las enzimas y la síntesis del triptófano se inhibe totalmente. En esta ocasión la acción del suero tiene un carácter muy específico, ya que sus anticuerpos no actúan sobre otras enzimas. Ellos reaccionan solamente con la proteína que forma parte de la constitución de la triptofansintetasa. El hecho de que las mutaciones del gene varían su control sobre la síntesis de proteínas específicas, se demuestra muy bien con la presencia de los alelos que provocan diferentes cambios de una u otra proteína.

En la *Neurospora* hay un mutante que a la temperatura de 25° C forma muy poca cantidad de triptofansintetasa y a 30° C, cuando la enzima trabaja más rápidamente, este mutante crece,

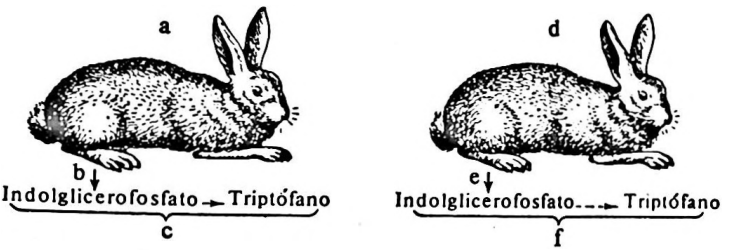


Fig. 166. Formación de anticuerpos contra triptofansintetasa

a—conejo normal, su suero (*b*) no altera la síntesis (*c*) del aminoácido triptófano en las células de la *Neurospora*; *d*—el conejo inmunizado al inyectársele una enzima purificada triptofansintetasa; *e*—el suero con anticuerpos contra la triptofansintetasa interrumpe la síntesis del triptófano (*f*) en las células de la *Neurospora*

incluso en un medio mínimo. Estos tipos de mutantes se llaman «sensibles a la temperatura». Diversas enzimas mutantes se diferencian entre sí y del tipo salvaje por una gran cantidad de indicadores. Existen mutantes capaces de formar proteínas carentes de actividad enzimática y por sus propiedades inmunológicas similares a la triptofansintetasa de tipo salvaje. Todo esto demostró que la estructura de la proteína está en relación directa con la estructura del gene en cuestión.

UN GENE—UNA CADENA POLIPEPTÍDICA. La diferencia de la biosíntesis del triptófano en el colibacilo (*E. coli*) comparada con la *Neurospora*, consiste en que la triptofansintetasa bacteriana está compuesta por dos cadenas polipeptídicas, o sea, los componentes *A* y *B*. Resulta que cada uno de éstos se determina por un gene independiente.

La genética de las hemoglobinas de la sangre humana es muy interesante. La cadena proteínica de la hemoglobina contiene proteínas en forma de dos pares de cadenas α y el mismo número de cadenas β. Cada cadena α contiene 141 aminoácidos y cada

cadena β tiene 146. De este forma la hemoglobina de un individuo adulto (Hb^U) puede ser designada como $\alpha^A\alpha^A\beta^A\beta^A$. Por cuanto la proteína Hb^U contiene diferentes polipéptidos se ha dado en llamarla proteína heteropolimérica.

La hemoglobina Hb^A es propia de los eritrocitos en los adultos. Junto a ella en un 2,5% de los casos hay hemoglobina Hb^{A_2}. En los eritrocitos del feto cerca del 80% de la hemoglobina es de la fórmula Hb^F. A los 12 meses de edad quedan sólo huellas de esta última. Todas las moléculas de la hemoglobina contienen dos cadenas idénticas cuyo carácter se diferencia en cada hemoglobina. Para la hemoglobina Hb^A es característica la existencia de dos cadenas α y dos β. A la Hb^{A_2} le corresponden dos cadenas α y dos σ y para la Hb^F, dos cadenas α y dos γ. Las formas mutantes de las hemoglobinas surgen producto de la variación de cuatro genes, cada uno de los cuales codifica las cadenas α, β, σ o γ.

Después de lo explicado, arribamos a una conclusión muy importante y es la siguiente: la acción del gene está relacionada no sólo con la síntesis de una proteína específica. El postulado antiguo: «un gene—una enzima» debe ser sustituido por el nuevo «un gene—una cadena polipeptídica».

Este cambio tiene un sentido profundo, el cual será explicado posteriormente, cuando se describa la esencia del mecanismo molecular de la síntesis de las proteínas dependiente del DNA. Las proteínas complejas, constituídas por una secuencia de polipéptidos, no pueden ser codificadas por genes independientes, sino que son codificadas por un grupo de genes según la cantidad de cadenas polipeptídicas que intervienen en su composición.

GENES E ISOENZIMAS. Gracias a la utilización de procedimientos relativamente sencillos fue demostrado que en las células de un organismo pueden estar presentes diferentes proteínas al producirse la misma o muy similar actividad enzimática. Estas formas variadas de la misma proteína han sido llamadas isofermentos.

En las investigaciones realizadas durante los últimos años se han encontrado muchos sistemas de isofermentos lo que se ha hecho con ayuda de la electroforesis zonal en medios de conservación tales como el gel de almidón y la poliacrilamida al ser coloreados para separar las zonas de actividad enzimática en la mezcla de las proteínas. Este método fue combinado con otros procedimientos, siendo demostrado que los isofermentos caracterizan la mayoría de las enzimas. Esta demostración también se refiere a las proteínas estructurales. Las isoenzimas pueden aparecer gracias a la presencia de diversos loci funcionales que codifican diversas cadenas polipeptídicas de proteínas. Las cinco enzimas más usuales del lactato de deshidrogenasa, o sea, A_4, A_3B, A_2B_2, AB_3, B_4 aparecen en presencia de diferentes combinaciones de los polipéptidos *A* y *B*. Diversas formas de las hemoglobinas

son producto de las combinaciones de los polipéptidos α, β, γ y σ. La variedad de formas de los alelos que provocan cambios en algunas cadenas de polipéptidos produce multitud de isofermentos. También tienen lugar modificaciones de la estructura secundaria de la proteína.

ACCIÓN DE LOS GENES Y ESTRUCTURA PRIMARIA DE LAS PROTEÍNAS. La comparación de la secuencia de los aminoácidos en la proteína normal y en la mutada, mostró que la influencia de los genes se refiere a la estructura primaria de los polipéptidos.

El componente A purificado de la triptofansintetasa de *E. coli* fue hidrolizado con ayuda de la tripsina. Los productos de la hidrólisis fueron comparados con proteínas mutadas, lo que demostró que en ellos tiene lugar una sustitución de aminoácidos.

La proteína estructural de una cepa común de virus del mosaico del tabaco está compuesta por 158 residuos de ácidos que se sitúan uno tras otro en un determinado orden consecutivo. Al realizar la comparación de esta estructura primaria de las proteínas con el mutante 41 del VMT fue obtenido el cuadro del reemplazo de los aminoácidos (tabla 13).

Tabla 13

Cambios de los aminoácidos en la proteína de la membrana de diferentes cepas del VMT

Número del residuo de aminoácido en el polipéptido de la proteína del VMT	Aminoácido		Número del residuo de aminoácido en el polipéptido de la proteína del VMT	Aminoácido	
	en la proteína de tipo salvaje	en el mutante		en la proteína de tipo salvaje	en el mutante
5	Tr	Ileu	66	Asp	Gli
20	Pro	Leu	73	Glu	Gli
24	Ileu	Val	107	Tr	Met
55	Ser	Leu	126	Ileu	Val
59	Tr	Ileu	134	Arg	Gli
61	Arg	Gli	138	Ser	Fe
63	Pro	Ser	156	Pro	Leu

El análisis de la hemoglobina en los enfermos con anemia de eritrocitos falciformes le permitió a L. Pauling descubrir en 1949 que éstos tienen una hemoglobina Hb^S especial que se diferencia de la normal por su comportamiento al ser colocada en un campo eléctrico (electroforesis). La enfermedad recibió este nombre debido a que los glóbulos rojos al disminuirles la presión parcial de oxígeno, adquieren forma de hoz o de media luna.

La secuencia de la ubicación de los aminoácidos en la cadena polipeptídica puede ser analizada por medio de la hidrólisis y la cromatografía en el papel. Tomemos como ejemplo el polipéptido en el cual la disposición de los doce aminoácidos tiene la forma

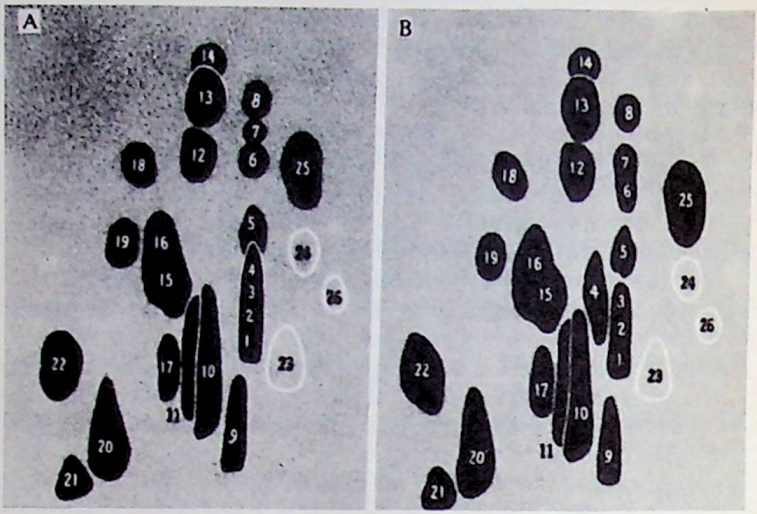


Fig. 167. Cromatografía en el papel de los péptidos de la hemoglobina normal (*A*) y falciforme (*B*)

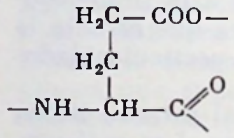
Los números indican la posición de los aminoácidos correspondientes en la cadena del polipéptido. Los aminoácidos 23, 24, 26 aparecen después de recibir la acción del calor. La diferencia en la composición de los aminoácidos se manifiesta en la sustitución de la valina por ácido glutámico

siguiente: valina—alanina—glicina—lisina—triptófano—valina—serina—arginina—glutamina—alanina—serina—ácido glutámico. Bajo la acción de la tripsina que cataliza la hidrólisis de la lisina y la arginina, se obtienen los siguientes fragmentos: 1—2—3—4, 5—6—7—8, 9—10—11—12. El método de la cromatografía en el papel permite captar estos pedazos, los cuales migran de la solución al papel con distintas velocidades. Cuando V. M. Ingram trató la hemoglobina normal y la falciforme con tripsina, ambas se disociaron en 30 péptidos. Por medio de la cromatografía se estudió la distribución y calidad de ambas hemoglobinas (fig. 167). Podemos ver que para 29 péptidos la forma y la distribución coincidieron. Sin embargo, la mancha (señalada en la fig. 167 con el número 4) se diferenciaba por la estructura del péptido característico para la hemoglobina Hb^S. La comparación de este péptido de Hb^S con los péptidos de Hb^A dio los siguientes resultados:

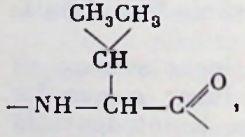
Orden de los aminoácidos	Hemoglobina Hb^A	Hemoglobina Hb^S	Orden de los aminoácidos	Hemoglobina Hb^A	Hemoglobina Hb^S
1	Histidina	Histidina	7	Acido glutámico	Valina
2	Valina	Valina			

3	Leucina	Leucina	8	Acido glutámico	Acido glutámico
4	Leucina	Leucina			
5	Treonina	Treonina	9	Lisina	Lisina
6	Prolina	Prolina			

Como puede apreciarse, la diferencia entre los dos residuos se refiere al único aminoácido en la posición 7. En este segmento, en la hemoglobina normal, se encuentra ubicado el residuo de ácido glutámico. En la hemoglobina Hb^S este residuo de ácido glutámico está sustituido por valina. El aminoácido valina es eléctricamente neutro debido a lo cual la molécula de hemoglobina Hb^S tiene un exceso de carga positiva y las propiedades eléctricas de las moléculas varían en su conjunto. La molécula de hemoglobina contiene cerca de 300 residuos de amonoácidos. La diferencia entre la hemoglobina normal y la hemoglobina con características de forma mutacional Hb^S se refiere solamente a un aminoácido de la cadena polipeptídica. En este caso las serias diferencias bioquímicas de un hombre sano y uno mutado se deben a variaciones elementales al nivel molecular. Aquí nos encontramos con la categoría de las llamadas enfermedades moleculares humanas. La causa molecular de la enfermedad tiene sus raíces en la sustitución del ácido glutámico por un residuo de valina. Sin embargo, la causa primaria de esta afección de la molécula de proteína es a su vez la alteración de la estructura del gene, que inicialmente, en forma de un alelo normal programó la biosíntesis de la hemoglobina normal. El nuevo estado del gene codifica en la molécula de hemoglobina la sustitución del residuo de ácido glutámico:



por un residuo de valina:



lo que conlleva a la aparición de toda una secuencia de cambios bioquímicos en el organismo. Cambian las propiedades fisiológicas de la hemoglobina, su carga eléctrica y se altera su capacidad para transportar el oxígeno. La rápida desintegración de los eritrocitos falciformes es respondida por un reforzamiento compensativo de la hemopoyesis, el aumento del bazo, la trombosis y otros fenómenos ulteriores que provocan una forma de anemia grave.

El análisis de las especifidades genéticas de la sangre en una serie de familias que presentan una manifestación atenuada de la anemia falciforme, condujo al descubrimiento de un tercer tipo

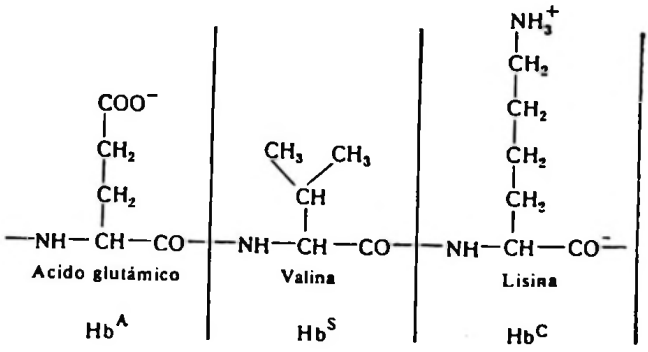


Fig. 168. Cambio de los residuos de aminoácidos en diversos tipos de la hemoglobina humana

de hemoglobina, la Hb^C. La diferencia molecular de esta tercera hemoglobina se expresa en que aquí el ácido glutámico, en su posición 146, ha sido reemplazado por residuo de aminoácido lisina (fig. 168).

INMUNOGENÉTICA. Entre los aspectos que abarca la Genética bioquímica uno de los lugares principales lo ocupan los problemas relacionados a la Inmunogenética la cual constituye una rama de la Genética que estudia la herencia de los antígenos, los anticuerpos y las particularidades de su interacción.

Se llaman antígenos aquellas sustancias que al introducise en el organismo provocan la formación de anticuerpos. Los anticuerpos se forman de gammaglobulinas en una clase especial de linfocitos. La molécula del anticuerpo sobre su superficie fija el antígeno formando un complejo.

La existencia de la reacción anticuerpo—antígeno se basa en la incompatibilidad genética tisular, dando lugar a que los órganos y los tejidos trasplantados se rechacen. Es evidente la significación, en estos procesos, del componente genético, ya que en las personas de idéntico genotipo, o sea, en los gemelos, el fenómeno de la histoincompatibilidad no se observa. Igualmente se han adaptado trasplantes de tejidos y órganos entre ratones de una misma línea consanguínea o entre híbridos de dos líneas consaguíneas, es decir, en ambos casos entre organismos con iguales genotipos. El análisis de la genética de la incompatibilidad en los ratones demostró muy claramente el papel de los genes

en estos fenómenos. Los trasplantes de tejidos de ratón en los límites de un solo individuo, entre individuos de una misma línea consaguínea y entre sus híbridos se llevan a cabo exitosamente en todas las ocasiones. En todos los casos de histocompatibilidad so unieron células que tenían un genotipo compatible desde el punto de vista inmunológico. El trasplante de tejidos de las dos líneas puras al híbrido, también es absolutamente posible, ya que los genes de las células de las líneas puras en su genotipo no aportan nada nuevo en comparación con lo que ya tiene el híbrido. Sin embargo, los trasplantes inversos, o sea, del híbrido a los individuos de ambas líneas puras, fracasan. En ambos casos el genotipo del híbrido se diferencia notablemente de los genotipos de ambas líneas puras:

	Línea *A*	Línea *B*
Genotipos de las líneas	$AABBCCDDEE$	$AAB^1B^1C^1C^1D^1D^1E^1E^1$
Genotipos del híbrido entre las líneas *A/B*	$AABB^1CC^1DD^1EE^1$	

Actualmente en los ratones se ha encontrado un sistema de 15 genes que determinan el fenómeno de la histoincompatibilidad. En los gemelos dicigóticos de las vacas se ha observado el fenómeno del acostumbramiento de los embriones a antígenos extraños y la aparición, por consiguiente, de la compatibilidad inmunológica. Estos gemelos conservan a lo largo de toda su vida la mezcla de los eritrocitos de los dos tipos antigénicos y son histocompatibles uno respecto al otro.

Todos estos hechos hicieron posible enunciar la moderna teoría genética de la inmunidad. Se considera que en el curso del desarrollo embrionario, se crea una población de células linfoides capaces de formar diversos anticuerpos. En este estadio las células poseen una supermutabilidad con respecto a los genes que programan la síntesis de las globulinas. La selección tisular deja sólo aquellas células en las cuales tiene lugar la formación de anticuerpos con una estructura superficial no complementaria a cualesquiera de los antígenos del organismo en cuestión.

Como resultado de este proceso los antígenos propios no se ligan en el organismo con los anticuerpos propios. Estos últimos reaccionan con los antígenos extraños cuando éstos son introducidos en el huésped. Después de penetrado el antígeno extraño, aparece el complejo anticuerpo—antígeno que estimula la formación de las correspondientes células que garantizan posteriormente el desarrollo de una potente reacción inmunológica. A la luz de estas ideas se comprende también la posibilidad de intervenir en el desencadenamiento de las reacciones inmunológicas, cuando se está desarrollando el embrión. En este período los procesos de selección tisular aún no se han terminado y la formación de anticuerpos contra antígenos extraños puede ser suprimida.

La histoincompatibilidad puede reprimirse por fuertes efectos. Por ejemplo, un ratón joven sometido a una dosis letal de rayos X no muere, si se le inyecta intravenosamente células de la médula ósea de un ratón no sometido a la radiación, con un genotipo inmunológicamente incompatible. La radiación destruyó todas las células maduras del huésped, capacitadas de elaborar anticuerpos contra los antígenos de las células medulares inyectadas. Al introducir las células de la médula, junto con éstas penetran linfocitos capaces de producir anticuerpos. Se obtiene, como resultado, que en el organismo del ratón irradiado aparecen linfocitos tanto del donante como del huésped. Estos seres han sido llamados quimeras radiológicas. Evidentemente que los tejidos linfoides del receptor, bajo el efecto de los antígenos del donante finalmente perecen. Los linfocitos del donante se imponen y reconstruyen el sistema genético inmune, garantizando la vida de las células con el genotipo del donante. A la luz de lo descrito, es evidente que todo el problema de la inmunidad a las enfermedades infecciosas se basa igualmente en los mecanismos genéticos de la incompatibilidad entre los antígenos extraños y los anticuerpos elaborados bajo su influencia. Uno de los resultados obtenidos en el análisis de estos mecanismos es la idea acerca de la batalla del sistema antígeno—anticuerpo con las células portadoras de las mutaciones somáticas que provocan el surgimiento de compuestos de elevado peso molecular extraños al organismo en cuestión.

Uno de los ejemplos más claros de la incompatibilidad genética tisular lo constituyen las consecuencias letales como resultado de transfusiones de sangre sin tener en cuenta su composición antigénica. Utilizando el método de hemaglutinación cruzada, K. Landsteiner y otros en los años 1900—1902 y después J. Jansky en 1907 encontraron en los seres humanos cuatro grupos sanguíneos. La esencia del método de hemaglutinación cruzada consiste en que los eritrocitos de un individuo se mezclan en la probeta con el suero sanguíneo de otro. Este análisis demostró (tabla 14)

Tabla 14

Experimento sobre la hemaglutinación cruzada de los eritrocitos humanos

Eritrocitos de los grupos	Suero de los grupos			
	O	A	B	AB
O	—	—	—	—
A	+	—	+	—
B	+	+	—	—
AB	+	+	+	—

Nota: El signo positivo indica la presencia de aglutinación, y el negativo, su ausencia.

que los seres humanos, según las propiedades antigénicas se dividen en cuatro grupos.

En 1925 Bernstein demostró que los antígenos eritrocíticos de los sistemas A—B—O se determinan por tres genes alélicos, de los cuales los alelos *A* y *B* dominan sobre el alelo *O*. Sin embargo, en los heterocigotos *AB* tiene lugar la codominancia, es decir, que en ellos surgen las propiedades antigénicas tanto del factor *A* como del *B*. Estas interrelaciones de los alelos se infieren de los patos de la herencia de los grupos sanguíneos en las personas (tabla 15).

Tabla 15

Investigación de los grupos sanguíneos humanos A, B, O, AB

Grupo sanguíneo en los padres	Grupo sanguíneo en los descendientes		Grupo sanguíneo en los padres	Grupo sanguíneo en los descendientes	
	aparece	no aparece		aparece	no aparece
O+O	O	A. B, AB	A+B	AB, A, B, O	—
O+A	A, O	B, AB	A+AB	A, B, AB	O
O+B	B, O	A, AB	B+B	B, O	A, AB
O+AB	A, B	O, AB	B+AB	B, A, AB	O
A+A	A, O	B, AB	AB+AB	A, B, AB	O

Así, puede decirse, que los seres humanos poseen dos antígenos *A* y *B* y dos tipos de anticuerpos séricos: anti-*A* y anti-*B*. Las personas con el antígeno *A* no tienen anticuerpo anti-A; aunque tienen el anticuerpo anti-*B*. Los individuos con el antígeno *B* no tienen el anticuerpo anti-B, pero tienen el anti-A. El grupo AB no tiene ninguno de los anticuerpos, y las personas del grupo O tienen los dos anticuerpos.

En el año 1911 en los seres humanos fue descubierto el grupo sanguíneo de los sistemas M—N. Sin embargo, en este caso en la sangre no hay anticuerpos naturales, por tanto estos grupos no se registran en las transfusiones de sangre. No obstante, estos antígenos se revelan con mucha facilidad por método de la heteroinmunización, es decir, por la formación de anticuerpos en el suero sanguíneo de otros animales en respuesta a la introducción de la sangre del individuo dado. Estos grupos sanguíneos tienen que ver con la presencia de los dos alelos codominantes M y N.

Las relaciones que se establecen en los mamíferos placentarios entre el embrión y su madre son muy peculiares. Es de esperar que la madre deba estimular los anticuerpos contra todos los antígenos extraños introducidos en el feto. Podría parecer que en este caso debiera presentarse un cuadro muy claro de histoincompatibilidad y el feto hubiera debido perecer por la acción de los anticuerpos provocados por la penetración de antígenos del em-

brión en la corriente sanguínea de la madre. Sin embargo, esto no ocurre porque la placenta es una barrera impermeable para la mayoría de los antígenos.

No obstante, en ciertos casos el fenómeno de la incompatibilidad inmunogenética surge en las interrelaciones entre la madre y el feto. El sistema de antígenos *Rh* contiene varios antígenos. Por primera vez este antígeno fue descubierto en el macaco *rhesus* y por eso recibió el nombre de factor *Rhesus*. Los seres humanos que no poseen el antígeno *Rh* se llaman *rhesus* negativos y los que lo poseen *rhesus* positivos. Resulta que cuando los embriones enferman de eritroblastosis, lo que conlleva generalmente a su muerte, la madre es *rhesus* negativa y el padre, *rhesus* positivo. Se demostró que los embriones heterocigóticos *Rhrh* surgidos de tales matrimonios, tienen el antígeno *Rh*, no poseyéndolo la madre. El antígeno *Rh* penetra a través de la placenta en la corriente sanguínea materna provocando la aparición de los anticuerpos anti-*Rh*, los cuales alcanzan al feto por la circulación sanguínea. En el primer embarazo la cantidad de anticuerpos es insuficiente para producir trastornos serios. Pero en el segundo embarazo se presentan trastornos, fatales de incompatibilidad inmunogenética entre la madre y el feto, muriendo éste último.

Preguntas para discutir

15-1. ¿Qué particularidades distinguen a los mutantes bioquímicos en la *Neurospora* y en otros organismos? ¿Qué mutaciones fueron llamadas auxotróficas?

15-2. ¿Qué relación existe entre los genes y la biosíntesis de las enzimas en la célula?

15-3. ¿Por qué las mutaciones de los genes interrumpen algunos eslabones de la biosíntesis?

15-4. ¿Qué causas genéticas provocan la enfermedad de fenilcetonuria en el hombre?

15-5. ¿Qué eslabones en la síntesis del triptófano requieren la acción genética?

15-6. ¿Qué cadenas de los polipéptidos toman parte en la formación de las moléculas de hemoglobina humana?

15-7. ¿Qué pruebas se pueden aportar a favor del postulado «un gene—una cadena polipeptídica»?

15-8. ¿Qué son los isofermentos y cuáles son las causas de su aparición?

15-9. ¿Hay alguna relación entre la acción de los genes y la estructura primaria de los polipéptidos?

15-10. ¿Qué diferencias en la estructura de los polipéptidos son propias de los individuos con hemoglobina normal (Hb^A) y de los enfermos con anemia falciforme (Hb^S)?

15-11. ¿Cuáles son las tareas científicas de que se ocupa la Inmunogenética?

15-12. ¿En qué se revela el fenómeno de la histoincompatibilidad y cuáles son sus causas genéticas?

15-13. ¿Habrá rechazo de un órgano trasplantado de un animal con genotipo $AABBCC^1$ a otro animal con genotipo *AABBCC*?

15-14. ¿Cómo es el mecanismo que reprime la histoincompatibilidad cuando se somete a un animal a una dosis alta de radiación?

15-15. ¿Qué son las quimeras radiológicas?

15-16. ¿Cuántos genes dan lugar a la existencia de cuatro grupos sanguíneos A, AB, B, O en el hombre? ¿Cómo se manifiesta la incompatibilidad durante las transfusiones de sangre?

15-17. ¿Cómo se manifiesta la genética del factor *rhesus*? ¿Cuando se presenta la letalidad fetal en el caso de incompatibilidad entre el feto y su madre según el factor *rhesus*?

XVI Estructura del gene y mecanismo de su acción

En la historia del estudio de la estructura del gene, el problema relativo a la naturaleza del alelismo ha ocupado siempre un papel relevante. Comparando el efecto de los alelos en los heterocigotos T. H. Morgan llegó a la conclusión de que el gene es una estructura elemental e indivisible, la cual cambia íntegramente cuando hay mutación. De acuerdo con la idea de la indivisibilidad del gene se consideraba que el entrecruzamiento tiene lugar entre los genes. Como resultado se llegó al convencimiento de que el gene es la unidad de la función, de las mutaciones y de la recombinaciones.

En nuestros días el problema del gene ha pasado a otro nivel. El gene se ha comenzado a estudiar como un sistema y como parte del sistema general que es el genotipo. La unidad de la función del gene resultó ser un producto de la integración de las funciones de sus partes: el gene es estructuralmente divisible en partes. El entrecruzamiento tiene lugar dentro del gene. Estos logros caracterizan la época del análisis molecular del gene. Más, en su tiempo, la investigación del alelismo escalonado fue la que dio comienzo a la revisión de la vieja teoría del gene.

TEORÍA DE CENTROS DEL GENE. En 1928, N. P. Dubinin al estudiar el fenómeno descubierto por él del alelismo escalonado en *Drosophila*, enunció la idea acerca de una estructura compleja del gene. Esta tendencia fue desarrollada en los trabajos de A. S. Serebrovski, I. I. Agol y otros.

En la investigación de las mutaciones *scute* y *achaete* en *Drosophila*, se demostró que sus alelos en parte coincidían por sus propiedades y en parte no. Esta divergencia llegaba hasta tal grado, que la coincidencia de dos alelos en un *compound* (compuesto), exteriormente conducía a la pérdida del alelismo entre dos genes, los cuales indudablemente pertenecían a una misma serie

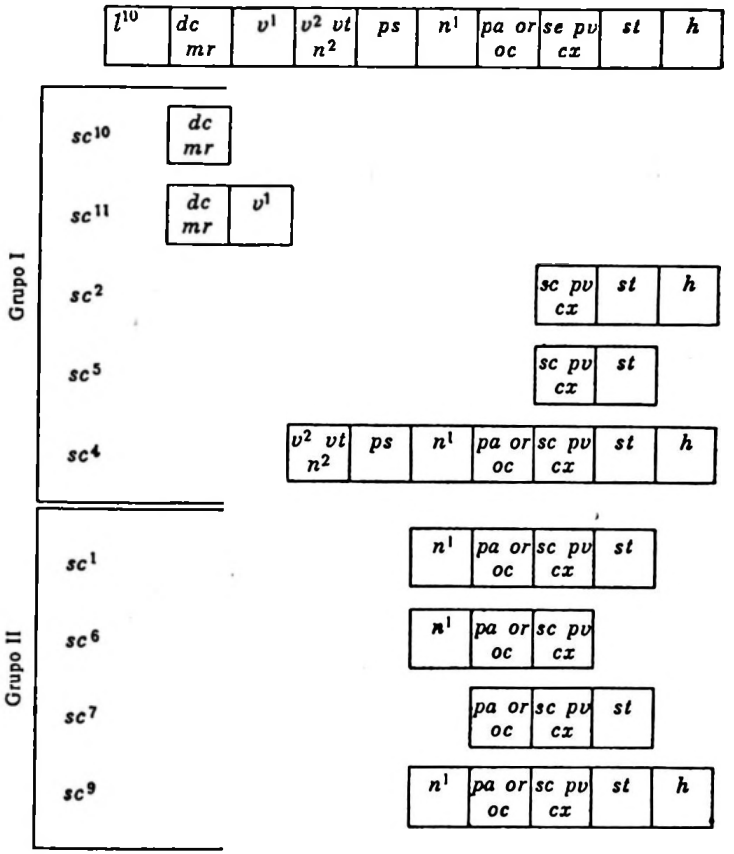


Fig. 169. Plano lineal del gene en el locus *achaete—scute* en *Drosophila*

alelomórfica. Esto último se demostró por los análisis realizados con mutaciones intermedias. El análisis de las regularidades de la mutagénesis y de aparición fenotípica de los *compounds* de pares diferentes de alelos, llevó a pensar que el gene puede fraccionarse y permitió elaborar mapas de las partes del gene dentro del sistema general del gene íntegro (fig. 169).

La elaboración de la idea de la teoría de centros del gene condujo a fundamentar las siguientes tres tesis: 1) el gene es divisible y consta de partes integrantes distribuidas dentro de él linealmente. Estas partes pueden variar independientemente en las mutaciones. De esta forma el gene no es la unidad de las mutaciones; 2) el gene no es unidad de recombinaciones, ya que el entrecruzamiento puede tener lugar en el interior del mismo, el cual

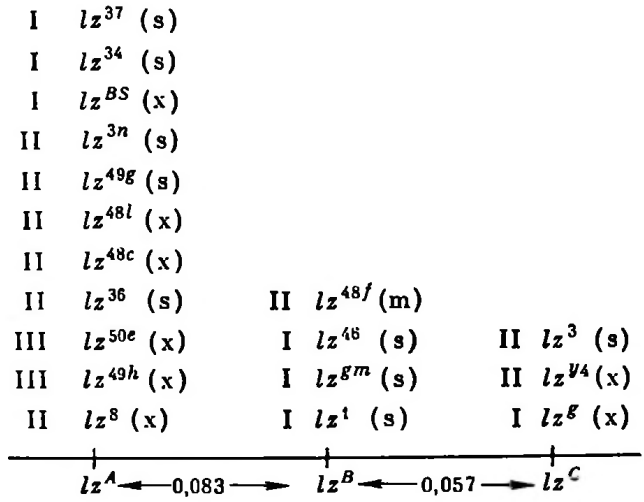


Fig. 170. Subloci en el gene *lozenge*

s—espontáneos; x—rayos X; m—iperita; *I—III*—clases fenotípicas

está complejamente estructurado. Esta conclusión se sacó a base de los resultados de la recombinación dentro del gene complejo *achaete—scute*; 3) el gene es la unidad de función, pero su funcionamiento total está condicionado por la integración de las funciones de sus partes componentes (centros). Estos principios de la teoría de centros asentaron las bases para elaborar un concepto moderno sobre el gene como un sistema biológico. A la luz de esta teoría, el gene, según sus propiedades principales, se concibe como una unidad de la integridad y el fraccionamiento.

PSEUDOALELISMO Y COMPLEMENTACIÓN DE LOS ALELOS. Un paso importante en el análisis de la naturaleza del gene fue dado cuando se estudió el llamado pseudoalelismo, que era en gran parte el desarrollo de los principios enunciados en las investigaciones del alelismo escalonado. La teoría acerca de los pseudoalelos fue elaborada por C. P. Oliver, H. Green, K. C. Green y E. B. Lewis así como por otros autores. Pseudoalelos fueron llamados los genes que siendo a la vez alelos verdaderos, pueden ser recombinados mediante el entrecruzamiento. Actualmente la existencia de los pseudoalelos ha sido comprobada en *Drosophila*, en maíz, algodón, *Neurospora*, *Aspergillus*, colibacilo, bacteriófagos y en otras formas.

Uno de los casos más conocidos es el pseudoalelismo del gene *lozenge* (ojos lisos, sin facetas) en la *Drosophila*, estudiado por H. Green y K. C. Green. El análisis de la recombinación de 18 ale-

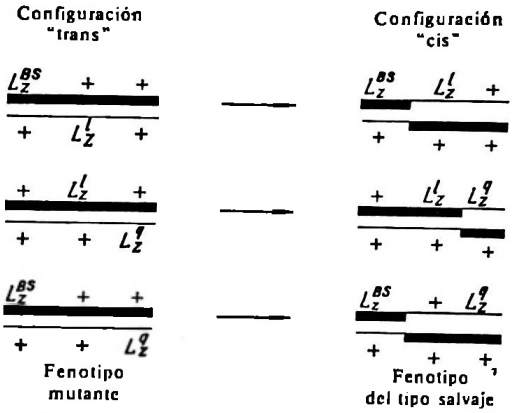


Fig. 171. Posiciones «trans» y «cis» en el pseudoalelismo

los del gene *lozenge* mostró que en este caso hay tres grupos de mutantes que se recombinan entre sí (fig. 170). Estas mutaciones se colocan en tres clases fenotípicas (I, II y III) según su efecto morfológico y bioquímico. Sin embargo, los representantes de estas clases se encuentran en diversos subloci (*A*, *B* y *C*).

La aparición del pseudoalelo depende de que los alelos pertenezcan a uno u otro sublocus y determina la posición en el sistema del par de cromosomas homólogos. Para los tipos «trans» y «cis» (fig. 171) esta posición es diferente, aunque en el conjunto de alelos ambos tipos son equivalentes. Puede verse que la posición «cis», es decir, cuando los pseudoalelos mutantes están reunidos en un cromosoma no conlleva a la manifestación de particularidades mutacionales. El fenotipo de estas formas es normal. Por otra parte, en la posición «trans», cuando los alelos se encuentran en diferentes cromosomas, aparece la manifestación alelomorfa, es decir, que existe el fenotipo mutante.

La complementación de los genes alelomorfos es un fenómeno muy importante en la interacción de alelos. Se llama alelos complementarios los genes con diferentes particularidades funcionales, debido a lo cual sus *compounds* resultan cercanos a la norma. Los primeros tests de complementación de alelos fueron utilizados por N. P. Dubinin al analizar la interacción de los alelos *scute*. La idea de la divisibilidad génica surgió del hecho de que diferentes partes de los alelos se extinguen mutuamente. En este caso, por primera vez fueron halladas las relaciones complementarias entre los alelos. El plano del gene *scute* se construyó a base de los tests de la complementación.

En el ejemplo de los alelos *lozenge* se demostró que el alelo lz^8 en los homocigotos (lz^8/lz^8) poseía un efecto muy fuerte, variando la estructura de los ojos. Igualmente esto se refiere al alelo *lozenge*

(lz^{50e}/lz^{50e}). Sin embargo, en el *compound* lz^{50e}/lz^{8} el fenotipo era muy cercano al normal.

En el locus *T* de los ratones domésticos fueron hallados no menos de 12 pseudoalelos. Los alelos t^{12}, t^{8}, t^{4}, t^{9}, *T* son letales en estado homocigótico, sin embargo, dan descendencias viables en los *compounds* de estos alelos diferentes.

En 1964 D. G. Catcheside determinó la complementación como la capacidad de un mutante defectuoso para compensar la deficiencia de otro. Actualmente el test de complementación también se ha introducido ampliamente en la Genética molecular de las bacterias y fagos

Una etapa muy importante en el estudio de la complementación en los microorganismos la constituyó el trabajo de E. Calef (1956) que demostró la existencia de la complementación intragénica en el locus adenina-9 en el *Aspergillus nidulans*. En 1959 D. Woodward, uniendo un extracto de dos líneas portadoras de diferentes alelos mutantes determinó la formación de la enzima bloqueada en cada uno de los alelos.

En 1952 G. Pontecorvo en el caso del pseudoalelo, planteó la idea del gene complejo sin hacer referencia a los principios elaborados para la teoría de los centros del gene. El supuso que los pseudoalelos son variaciones en diferentes partes del gene poseedor de extensión. Los segmentos mutantes que integran el gene complejo los llamó «site». Según la idea de Pontecorvo, como fue hecho anteriormente en las mutaciones *scute*, las recombinaciones entre los pseudoalelos son de tipo intragénico.

En lo sucesivo el término «pseudoalelo» perdió su significado. En 1956 H. Roman introdujo el término «heteroalelo» para los alelos que se combinan dentro de un cromosoma por medio de la recombinación intragénica y el «homoalelo» para aquéllos que no se recombinan entre sí.

Un estudio detallado en el que se utilice el método de las recombinaciones de cualquier serie de alelos múltiples, por regla general, pone de manifiesto el fenómeno del pseudoalelismo, el cual es una prueba convincente de que cualquier gene es una formación compleja que incluye toda una serie de subunidades.

FUNDAMENTOS MOLECULARES DE LA ESTRUCTURA DEL GENE. En correspondencia con las ideas de la teoría de los centros del gene y su confirmación en las investigaciones realizadas sobre el pseudoalelismo, S. Benzer, M. Demerec y otros científicos obtuvieron el cuadro de la composición compleja del gene al nivel de las moléculas de DNA.

Las investigaciones de Benzer (1955—1961) fueron dedicadas al análisis de la estructura molecular del sector *r*II en el cromosoma del bacteriófago *T4*.

El fago salvaje *T4* provoca la formación de manchas estériles parecidas cuando se siembra en el cultivo celular de cualquiera

de las dos líneas de *E. coli*; *B* y *K*12 (λ). Una cierta categoría de los mutantes de este fago varió las manchas estériles al sembrarlos en la línea *B* y no se multiplicó en lo absoluto en las células de *E. coli K*12 (λ). Todos los mutantes de este tipo resultaron localizados en los límites de un pequeño segmento del cromosoma del fago que tenía sólo una longitud de 6 unidades de recombinación.

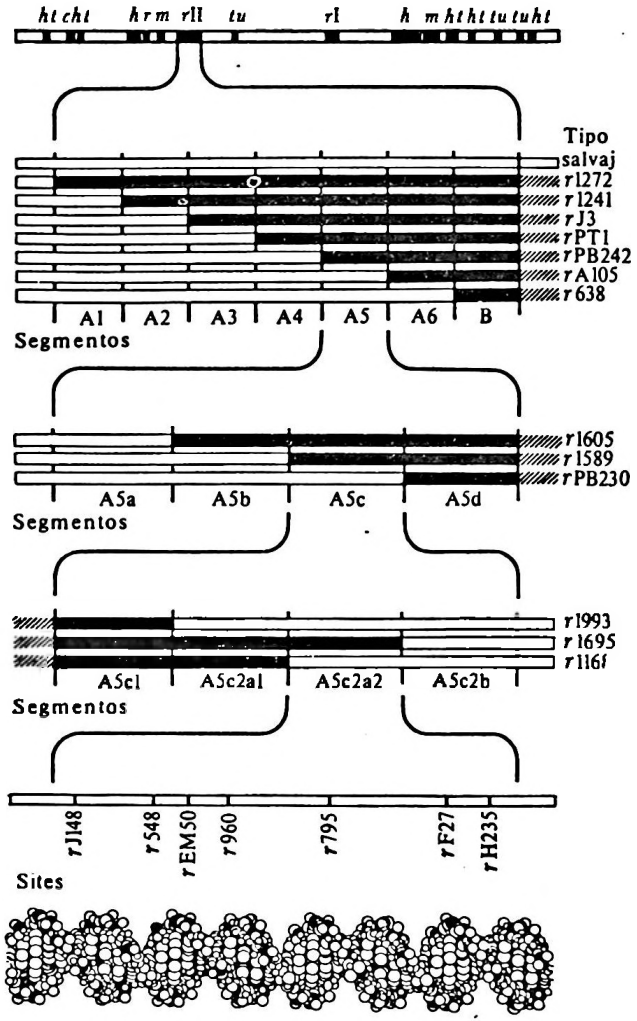


Fig. 172. Método genético para determinar los *sites* dentro del gene

Se comprobó que si se infectan las células de *E. coli K*12 (λ) con dos mutantes diferentes, entonces en algunos casos se observa la multiplicación de estos mutantes. Este experimento indicó que estas mutaciones no son alélicas. Por otra parte, cuando la introducción de dos diferentes mutantes *r*II obtenidos independientemente, no provocaba la lisis de las bacterias, estos mutantes fueron reconocidos como pertenecientes a una misma serie de alelos. Este análisis determinó la existencia de dos grupos de estos mutantes, el *A* y el *B* en la región *r*II, los que posteriormente fueron llamados cistrones *A* y *B*. El estudio de las recombinaciones entre alelos dentro de cada cistrón demostró que en este caso, junto con las mutaciones génicas había muchas deficiencias que no producían mutaciones reversibles y no se recombinaban con los alelos situados en la región de las deficiencias. El análisis de las recombinaciones de los alelos y la obtención de los *compounds* con deficiencias permitieron llevar a cabo una elaboración de los mapas más detallados dentro de los cistrones *A* y *B*, que ocupan la región *r*II. Los procedimientos fundamentales de este trabajo se muestran en la fig. 172. La fila superior del dibujo representa un segmento del filamento del DNA del fago *T*4 y una serie de loci, entre los cuales se encuentra también el locus *r*II.

Utilizando el método de la complementación Benzer dividió el locus *r*II en los cistrones *A* y *B*. El cistrón *A* resultó ser mucho más largo que el cistrón *B* y para identificar mejor los mutantes *r*II, Benzer dividió el cistrón *A* en 6 segmentos, cada uno de los cuales fue partido en subsegmentos.

Un análisis posterior realizado se muestra a título de ejemplo en el segmento *A*5, el cual al realizarse tres deleciones se parte en cuatro segmentos. De ellos el segmento *A*5*c* de nuevo es dividido en cuatro fragmentos mediante tres deleciones. Para cada uno de ellos, en nuestro caso, para el segmento *A*5*c*2*a*2 ahora con ayuda del análisis de recombinaciones entre diferentes mutantes, se elaboran micromapas, en los cuales se determina la disposición lineal de las partes elementales de los genes que son «*sites*». A cada *site* mutante Benzer le adjudicó su número. En los límites de la región *r*II se hallaron cerca de 300 *sites* mutantes.

En la fig. 172 (abajo) se representa un segmento de la molécula de DNA que contiene cerca de 40 nucleótidos y que corresponde por sus dimensiones a la microregión estudiada.

Los datos de Benzer demostraron que el gene es un segmento de la molécula de DNA, que tiene un carácter estrictamente lineal. Es discreto, ya que está compuesto por un conjunto de nucleótidos (fig. 173), poseyendo enormes posibilidades para las mutaciones. Los cistrones *A* y *B* portan más de 1000 sites, cada uno de los cuales tiene una frecuencia de mutación diferente. Los sites mutantes son capaces de realizar la mutación reversible. Las deleciones son faltas físicas de algunas partes del gene que no son aptas de dar mutaciones reversibles.

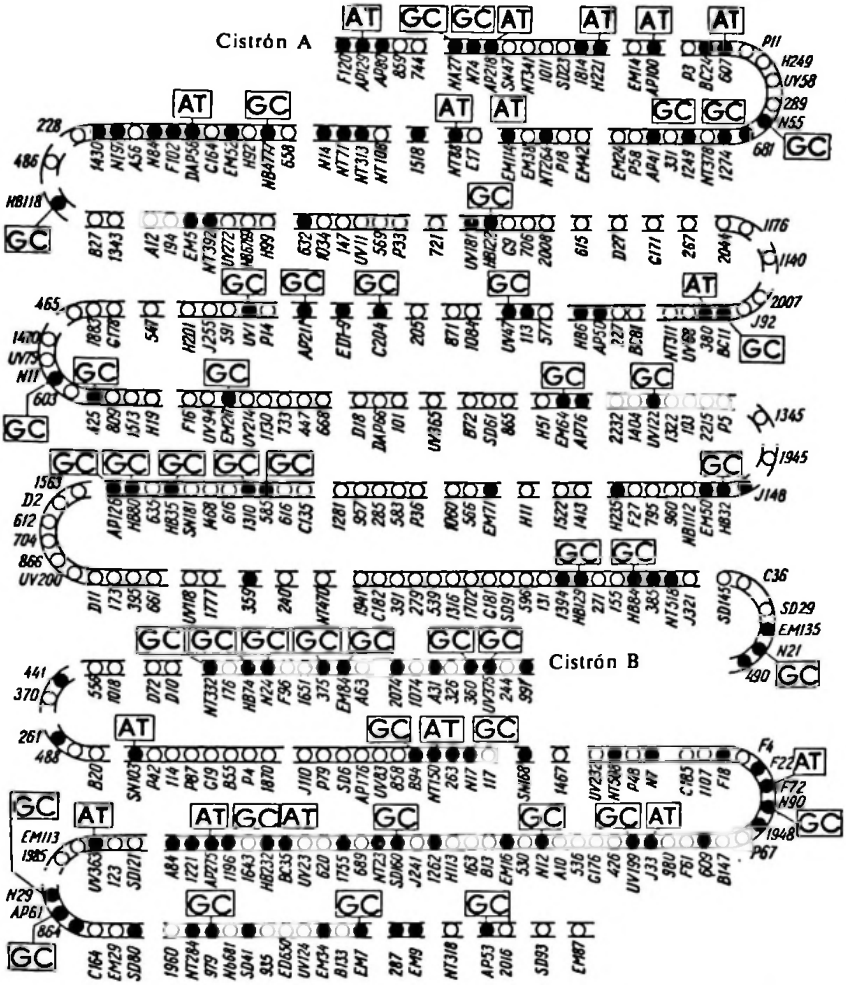


Fig. 173. Fundamentos moleculares de la estructura del gene (según S. Benzer)

Se demostró que el entrecruzamiento dentro del gene permite construir los mapas intragénicos de la distribución de los sites. Cada gene controla el orden de los aminoácidos en el polipéptido correspondiente. En un gene hay entre 500 y 1000 sites. La variación de cada uno de estos últimos altera la estructura primaria de las proteínas.

TRANSCRIPCIÓN DE LAS MOLÉCULAS DE RNA*m*. Los genes son portadores de una reserva de información genética necesaria para la síntesis de las proteínas.

Sin embargo, en la molécula de DNA su variedad, en cuanto a los distintos genes, puede estar relacionada sólo con diferentes combinaciones de las cuatro bases nitrogenadas que son la adenina, la timina, la citosina y la guanina.

En realidad, si nos fijamos en la correlación cuantitativa de los pares adenina — timina y guanina — citosina en el material genético de los más diversos organismos, podremos ver que no hay nada específico en este aspecto (tabla 16).

Tabla 16

Correlación (en %) de los pares adenina — timina y guanina — citosina en diferentes organismos

Objeto	Adenina	Timina	Guanina	Citosina
Ser humano	31,0	31,5	19,1	18,4
Erizo de mar	32,8	32,1	17,7	17,7
Pollo	28,8	29,2	20,5	21,5
Levaduras	31,7	32,6	18,8	17,4
Salmón	29,7	29,1	20,8	20,4
Saltamontes	29,3	29,3	20,5	20,7
Micobacteria tuberculosa	15,1	14,6	34,9	35,4
Colibacilo	26,1	23,9	20,6	20,3
Fago *T2*	32,6	32,6	18,2	16,6

En lo referente a la cantidad de nucleótidos en el material genético, ésta es extremadamente elevada, lo que le permite tener enormes posibilidades para llevar a cabo las más disímiles combinaciones de bases nitrogenadas a lo largo de la molécula del DNA y del RNA. En este caso, la cantidad de nucleótidos en un genoma crece a medida que se hace más compleja la organización de las formas vivas. La cantidad de nucleótidos en la molécula de DNA por el genoma de diferentes organismos se muestra a continuación:

Objeto	Nucleótidos	Objeto	Nucleótidos
Ser humano, ratón, maíz	$1{,}0—1{,}4 \times 10^{10}$	Colibacilo	2×10^7
Drosophila	$1{,}6 \times 10^8$	Fago *T4*	4×10^5
Aspergillus	8×10^7	Fago lambda	1×10^5
		Fago ϕX17	$4{,}5 \times 10^3$

La esencia del problema del código genético es conocer qué combinaciones y de cuántos nucleótidos se llevan a la codificación del correspondiente aminoácido en la estructura de la proteína. En total son 20 los aminoácidos fundamentales. Está claro que un nucleótido no puede codificar un aminoácido, ya que hay solamente cuatro diferentes nucleótidos. Los pares de nucleótidos tampoco bastan para codificar 20 aminoácidos, ya que su número puede ser solamente 16. Si se toman las combinaciones de tres nucleótidos, obtenemos 64 de éstas. Esta cifra supera marcada-

mente al número de los aminoácidos primarios. La unidad del código que transmite al sintetizarse una proteína, la información sobre un determinado aminoácido ha sido llamada codón. Se ha comprobado que el codón realmente está compuesto por tres nucleótidos.

La etapa contemporánea del estudio de la síntesis de las proteínas comenzó alrededor de 1955, cuando M. B. Hoagland y otros científicos enunciaron los principios de formación del sistema acelular, capaz de garantizar la síntesis de las proteínas partiendo de los aminoácidos. Este sistema,particularmente contiene ribosomas, moléculas del RNA de transferencia de peso molecular relativamente bajo ATP, aminoácidos y una serie de enzimas activadoras. En la célula fueron encontrados 20 diferentes RNA de transferencia y 20 diferentes enzimas activadoras.

Desde hace tiempo se conoce que la síntesis de las moléculas de proteínas transcurre en el citoplasma. Esto demostró que la propia molécula de DNA no puede ser matriz para la codificación de los polipéptidos. Era necesario buscar ciertos mecanismos moleculares de la transferencia de la información del gene desde las moléculas de DNA al citoplasma para transmitir este código para la síntesis de los polipéptidos. Se expresaron ideas acerca de que las moléculas de RNA especiales sirven como transmisores. Estas moléculas debían reflejar la estructura de las moléculas de DNA, ya que sólo de tal forma ellas podrían hacer llegar el código de DNA hasta las estructuras que garantizan la síntesis proteica. Sin embargo, en 1958 A. N. Belozerski y A. S. Spirin no encontraron esta correspondencia cuando estudiaron el preparado sumario de células de RNA; pero posteriormente se encontró que una pequeña porción muy especial de RNA celular posee las correspondencias requeridas (E. Volkin y L. Astrachan). Precisamente esta porción de RNA juega el papel de enlace en la cadena de la transmisión de la información hereditaria del DNA a las proteínas.

Los experimentos sobre el estudio de la variación de la síntesis de las proteínas en la célula después de haber introducido en esta última los virus que contienen DNA, jugó un papel muy importante para la comprensión como el RNA transmite el código de los genes para la síntesis proteica. El virus infeccioso en la célula, extraña para él, garantizó la síntesis de la porteína necesaria al virus en cuestión. Se detectó que la síntesis del RNA hospedero se detiene en cuanto el DNA vírico entra en la célula. En 1961 D. J. Brenner, F. Jakob y M. Meselson demostraron que en estas condiciones se forma un nuevo RNA de fago de peso molecular elevado, el cual se fija a la superficie de los ribosomas del huésped. Después las bacterias comienzan a sintetizar proteínas fágicas. Este fenómeno confirmó la idea de que los ribosomas son estructuras no especializadas que sintetizan la proteína determinada por el RNA específico que refleja el código de las moléculas correspondientes de DNA. Este RNA específico que difunde la información

fue denominado RNA mensajero o de información (RNA*m*). S. Ochoa y M. Grunberg-Manago descubrieron, en 1965, la enzima fosforilasa polinucleotídica que era capaz de catalizar la polimerización de los difosfatos de ribonucleósido en polirribonucleótidos, liberando fosfato inorgánico. En 1959—1960 B. Weiss demostró la existencia de la enzima RNA-polimerasa que sintetiza la molécula de RNA partiendo de cuatro trifosfatos de ribonucleósido utilizándose como cebo una molécula de dos cadenas de DNA. Resultó que las moléculas de RNA repetían la secuencia de los nucleótidos de la molécula de DNA de cebo, poseyendo uracilo en los lugares en los cuales debía haber timina.

El fenómeno de transcripción tiene un carácter general en la autoduplicación de las moléculas de DNA y RNA. En todos estos casos tiene lugar la transcripción de información genética de la molécula madre a la molécula hija. La esencia de este fenómeno radica en la reproducción en las moléculas hijas de la secuencia inicial de las bases, que caracteriza a las moléculas progenitoras. Por cuanto el uracilo, que entra en la composición del RNA, sustituyendo a timina, resultó posible transcribir la información específica de las moléculas de DNA a las moléculas de RNA. Esto último fue lo que sirvió de clave para que aparecieran en la célula las moléculas unifilamentosas de RNA*m*, las cuales recibiendo la información del gene, la transmiten al citoplasma.

En 1958 en los albores de la teoría sobre las moléculas de RNA mensajero, F. Crik enunció la idea acerca de los procesos que intervienen en la síntesis de las proteínas, llamándola dogma central de la Biología molecular. De acuerdo con este dogma el DNA posee la capacidad de elaborar en los genes las moléculas de RNA mensajero (RNA*m*). Este proceso recibió el nombre de transcripción. Las moléculas de RNA*m* pasan al citoplasma y transmiten el código del gene para la síntesis de los polipéptidos. Este proceso se denominó traslación. De acuerdo con el dogma, todos estos procesos son irreversibles. El polipéptido es incapaz de transcribir las moléculas de RNA*m*. La molécula de RNA*m* es incapaz de transcribir la molecula de DNA.

Cuando se transcriben las moléculas de RNA*m*, en la matriz del gene se produce el destrenzamiento en este segmento de los filamentos de DNA. De uno de ellos se copia la información. Los ribonucleótidos complementarios se disponen en la estructura lineal del gene por medio de la enzima RNA-polimerasa. El uracilo es complementario de la adenina. A diferencia del DNA-polimerasa que es un polipéptido, el RNA-polimerasa tiene una estructura compleja que consta de cinco cadenas polipeptídicas de configuración complicada. En la fig. 174 se muestra el esquema de transcripción de una molécula de RNA*m* en un filamento de la molécula de DNA. La unión de la enzima RNA-polimerasa desenrrolla el DNA en el segmento del gene. Un filamento de DNA comienza a fijar a los ribonucleósidos. A medida que se produce

el movimiento a lo largo del gene, la molécula de DNA se destrenza y se transcribe la molécula de RNA.

De esta manera el mecanismo de transcripción de la molécula RNA*m* es una forma muy específica de la síntesis no replecativa de DNA. En este caso la brecha se forma por el movimiento del RNA-polimerasa y ésta se cierra al aparecer la molécula de RNA*m*. Esta última está privada de la capacidad de duplicación. Evidentemente que, por su composición las moléculas de RNA*m* repiten

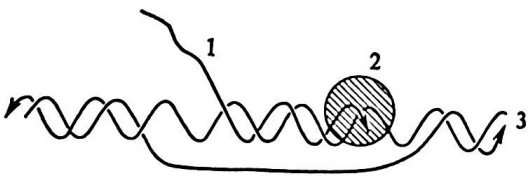


Fig. 174. Transcripción de la molécula de RNA *m* en la matriz de un filamento de la molécula de DNA

1—molécula de RNA*m* a transcribir; *2*—molécula de RNA-polimerasa; *3*—molécula de DNA de dos filamentos

la composición de los genes de los cuales fueron transcriptas. Las moléculas de RNA*m* a diferencia de las moléculas de doble espiral de DNA están formadas por un filamento lineal de polinucleótido.

La transcripción de la molécula de RNA*m* comienza después de producirse la fijación del RNA-polimerasa. Esta unión no puede ser casual. El reconocimiento del lugar de unión se realiza por la molécula de RNA-polimerasa por medio de uno de sus cinco polipéptidos, el polipéptido σ. Moviéndose a lo largo de la matriz el RNA-polimerasa transcribe la molécula de RNA*m* de una determinada magnitud, recibiendo posteriormente la señal de parada, deteniéndo la síntesis y separándose de la matriz.

TRASLACIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA. Después de que las moléculas de RNA*m* aparecen, les queda por delante la tarea de transmitir la información genética recibida para la síntesis de la proteína. Este escalón en la actividad de las moléculas de RNA*m* obtuvo el nombre de traslación.

La condición indispensable para que se produzca la traslación es el paso de las moléculas de RNA*m* al citoplasma y su unión con los ribosomas, que son estructuras que garantizan la síntesis de la proteína en la célula. Las dimensiones del ribosoma fueron determinadas mediante el estudio de su sedimentación. La velocidad de sedimentación de los compuestos estudiados en la ultracentrífuga se mide en unidades *s* (en honor de Svedberg, quien

elaboró este método). Se obtuvo que los ribosomas del colibacilo de 70*s* están formados por dos subunidades, una de las cuales tiene como constante de sedimentación 30*s*, y la otra, 50*s*. En total el ribosoma contiene un 64% del RNA ribosómico (RNA*m*) y un 36% de proteína. El peso molecular del RNA que incluye en la composición del ribosoma es alto, siendo $0{,}55 \pm 0{,}10 \times 10^6$ para el RNA de las subunidades de 30*s* y $1{,}5 \pm 0{,}20 \times 10^6$ para el RNA de las subunidades 50*s*. Estos RNA tienen sus propias constantes de sedimentación, siendo ellas 16*s* y 23*s* respectivamente.

Para los procesos de síntesis de la proteína tiene una gran importancia el RNA llamado soluble o de transferencia (RNA*t*). Este RNA tiene también un solo filamento y un pequeño peso molecular (26 000), sus dimensiones son de 4*s* y contiene alrededor de 70 ó 80 nucleótidos. Por medio de las marcas radiactivas se demostró que cuando la molécula de RNA*t* alcanza el ribosoma, ella porta uno de los aminoácidos. Existen 20 diferentes RNA*t*, cada uno de los cuales transporta al ribosoma un aminoácido específico.

En 1965 R. W. Holley y sus colaboradores descifraron el orden de los nucleótidos para el RNA*t* de alanina de la levadura, encontrando en él toda una serie de bases no comunes (fig. 175).

Se demostró que las moléculas de RNA*t* pueden crear un complejo con el DNA desnaturalizado de los cromosomas. De aquí puede deducirse que estas moléculas también se sintetizan en determinados genes. El conocimiento del orden de los nucleótidos en las moléculas de RNA*t* es muy importante, ya que ellas son réplicas de determinados genes muy específicos. Los genes individuales llevan a cabo la síntesis proteica en el citoplasma por medio de la transcripción en las moléculas de RNA*m* y RNA*t*.

Es evidente que este análisis jugará en el futuro un papel importantísimo en el conocimiento de la estructura del propio gene, ya que el aislamiento de moléculas individuales de RNA es prácticamente la extracción de la célula de la información genética que lleva un gene.

El momento de la fijación del aminoácido a la molécula de RNA*t* está precidido por la activación de éste. Estos procesos se catalizan para cada aminoácido por una enzima específica. Los aminoácidos activados (complejo aminoacil — RNA*t*) son llevados al ribosoma, donde se lleva a cabo la interacción entre el RNA*m* y el RNA*t*. Los aminoácidos traídos por este último, se unen formando una cadena polipeptídica.

La molécula de RNA*m* se une a la pequeña subunidad del ribosoma a través de su extremo 5′ (fig. 176). En la subunidad mayor del ribosoma entran dos moléculas de RNA*t* unidas con los aminoácidos. En este caso las moléculas de RNA*t* no sólo juegan el papel de transmisores de aminoácidos, sino también de adaptadores específicos de los segmentos de las moléculas de RNA*m*. En el ribosoma entran sólo las moléculas de RNA*t* que son complementa-

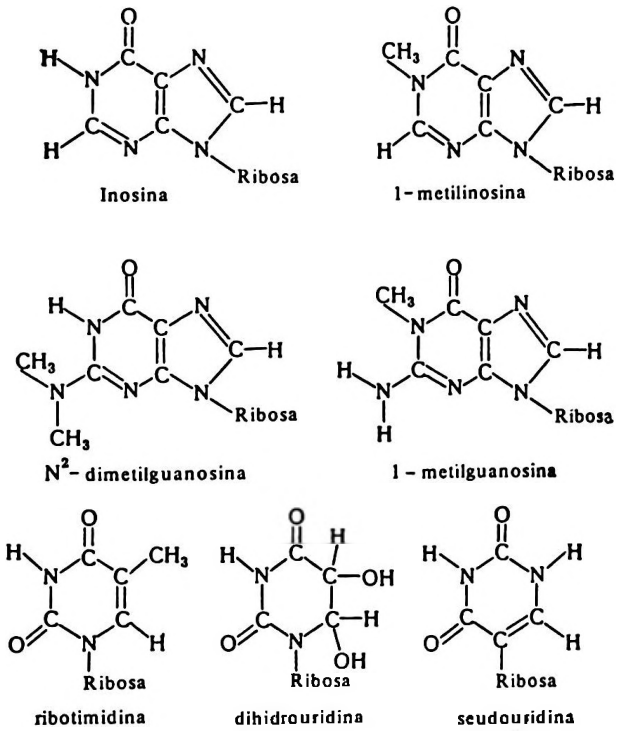


Fig. 175. Estructura de bases no comunes que entran en la estructura del RNA*t* de alanina

rias de los segmentos de RNA*m* que integran el ribosoma. La molécula de RNA*m* se mueve a través del ribosoma en el sentido de 5′ a 3′ (véase fig. 176, *A*). La molécula de RNA*t* ligada al segmento saliente de RNA*m*, sale también, liberándose del aminoácido que se queda en el ribosoma. Inicialmente, las moléculas de RNA*t* se unen a la posición 1 del ribosoma, luego pasan a la posición 2 (fig. 176, *A*) y posteriormente, después de ligar el aminoácido traído por el mismo RNA*t* a la cadena proteica creciente, la molécula de RNA*t* abandona el ribosoma. De esta forma, a medida que se produce este movimiento, cada molécula de RNA*t* deja el aminoácido traído por ella. Entre éstos se producen los enlaces polipeptídicos (enlace entre los aminoácidos prolina y fenilalanina en la fig. 176, *B*) y como resultado de este proceso, poco a poco va creciendo el polipéptido sintetizado. Se hace evidente que la síntesis de este polipéptido en el sentido de la ubicación en éste de los aminoácidos, es decir, la síntesis de la estructura primaria de las proteínas, está determinada por la

especificación de la molécula de RNA*m* que pasa por el ribosoma. Ya que la molécula de RNA*m* es lo suficientemente larga, a ella pueden unirse varios ribosomas. En cada uno de los ribosomas ligados a una molécula de RNA*m*, tiene lugar la síntesis de las mismas moléculas de proteína, sin embargo, esta síntesis se encuentra en diferentes estadios, lo que se determina de acuerdo con cuál de ellos entró en contacto primero con la molécula de RNA*m* y con cuál después (fig. 177). La estructura formada (RNA*m* con varios ribosomas unidos) fue llamada polirribosoma o polisoma. Algunas moléculas de RNA*m* contienen más de 1500 nucleótidos, cada uno de los cuales dista uno del otro a 3, 4 Å, de manera que una molécula de esto tipo en total tiene una longitud de 50 000 Å.

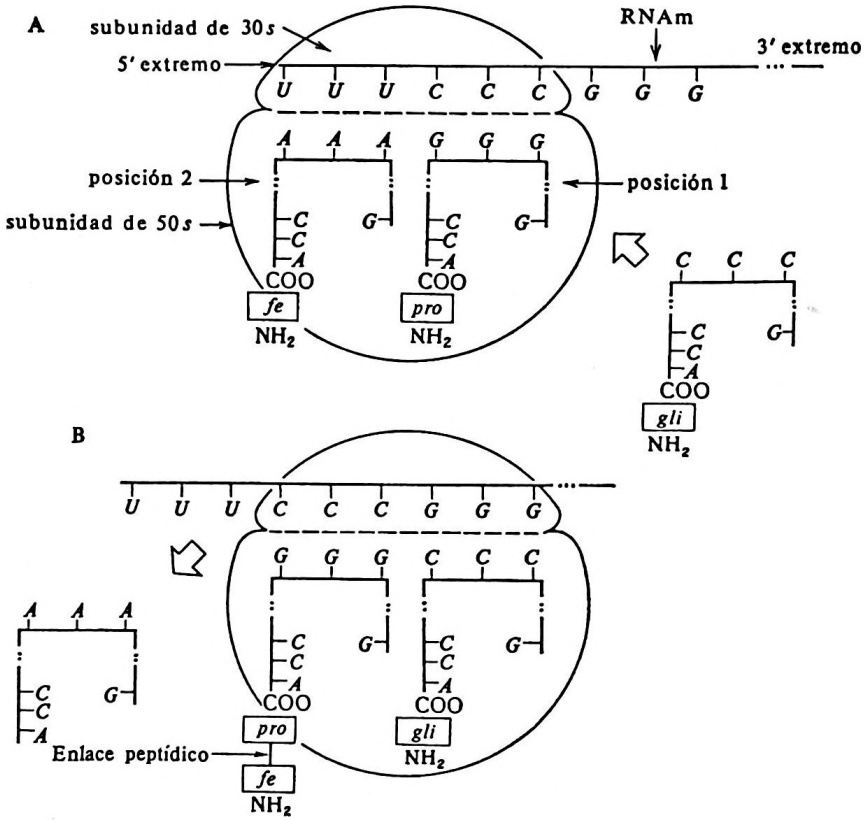


Fig. 176. Esquema de interrelación entre las moléculas aciladas del RNA de transferencia y mensajero en el ribosoma en la formación de enlaces peptídicas

La molécula de RNA*m* se mueve en la dirección al extremo 3': *A*—comienzo del movimiento; *B*—formación del primer enlace polipeptídico

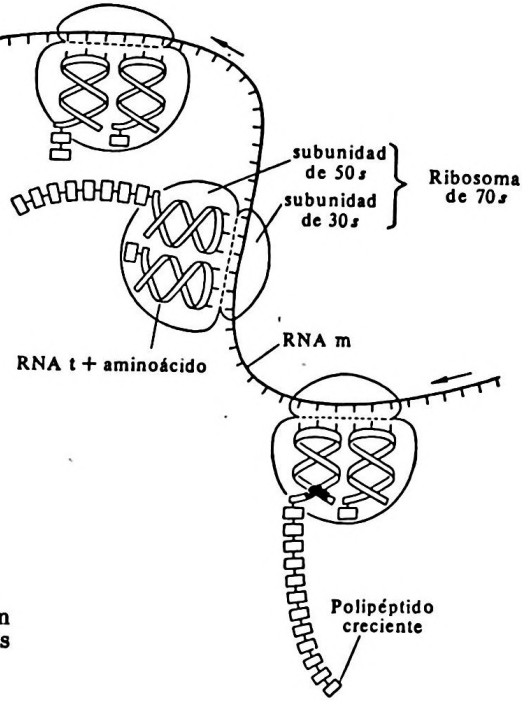


Fig. 177. Polirribosoma en el momento de la síntesis proteica

La ordenación del proceso de introducción sucesiva de cada uno de los aminoácidos en el polipéptido, se garantiza por el hecho de que las moléculas de RNA*t*, que portan el aminoácido en cuestión, poseen un aparato de identificación del codón requerido en la molécula de RNA*m*. Este reconocimiento se asegura por la presencia en la molécula de RNA*t* de un triplete especial complementario del codón correspondiente en la molécula de RNA*m*. Este triplete recibió el nombre de anticodón.

En 1964 fue descifrada por primera vez la estructura del RNA de transferencia tomado como ejemplo el RNA*t* de alanina (fig. 178). Esta molécula constaba de 77 nucleótidos, incluyendo una serie de bases no comunes (círculos rayados). La forma de la molécula, debido a la acción de enlaces de hidrógeno en una serie de lugares, es pliegada, por lo que recibió el nombre de hoja de trébol. El anticodón en la composición de los nucleótidos — *I* (inosina, base no común), *G* (guanina), *C* (citosina) — se encuentra en el doblamiento de la molécula. En el extremo opuesto de la molécula existe un segmento unifilamentoso compuesto de cuatro bases. Las tres bases superiores *ACC* constituyen el lugar de unión del aminoácido activado. El enlace entre la adenina del

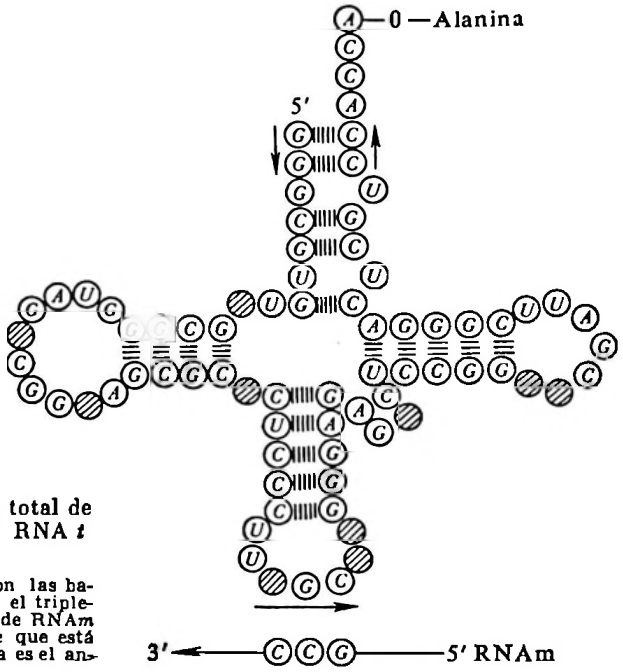


Fig. 178. Secuencia total de los nucleótidos en el RNA *t* alanínico

Los círculos rayados son las bases no comunes. Abajo, el triplete *CCG* de la molécula de RNA*m* es el codón. El tiplrete que está por encima de la flecha es el anticodón

extremo en la posición 3′ con el aminoácido tiene carácter covalente. La energía para llevar a cabo este enlace la proporcionan las moléculas de ATP. Este enlace es específico desde el punto de vista que cada tipo de molécula RNA*t* se enlaza con uno de los 20 aminoácidos, jugando un papel decisivo la enzima activadora aminoacilsintetasa.

Las interrelaciones entre la información genética transferida a los ribosomas por la molécula de RNA*m* y los aminoácidos traídos al ribosoma por la molécula de RNA*t*, se pusieron en claro después que se realizó el estudio de la esencia del código genético.

El inicio del análisis bioquímico genético de la naturaleza de los codones tuvo lugar en el año 1961 y se debe a M. W. Nirenberg y H. Matthaei, quienes crearon los polímeros sintéticos más simples y sustituyeron por éstos moléculas nativas de RNA*m* en el sistema integrado de componentes de las células bacterianas y de la mezcla de aminoácidos. En cada tipo de la mezcla uno de los aminoácidos fue marcado con carbono radiactivo (C^{14}); mientras que los demás aminoácidos (19) no tenían marca, obteniéndose que el polirribonucleótido sintético, compuesto únicamente de uracilos (ácido poliuridílico) determinó la síntesis de la proteína, en la cual cada aminoácido era fenilalanina. En otro experimento fue demostrado que el polinucleótido formado sólo

por citosinas (poli-*C*) determinó la inclusión en la proteína del aminoácido prolina. Los polinucleótidos sintéticos fueron preparados, utilizando la enzima polinucleotidofosforilasa, que enlazaba los nucleótidos aleatoriamente. Para los primeros experimentos esto fue suficiente, ya que en ellos fueron utilizados polinucleótidos sintéticos compuestos por un solo tipo de nucleótidos. Posteriormente fueron halladas las vías de síntesis más complejas de las moléculas de diferentes nucleótidos con diferentes disposiciones.

Esta nueva metodología se desarrolló ampliamente por Ochoa y sus colaboradores, lo que les permitió determinar los tripletes para todos los 20 aminoácidos. En este caso fue demostrado que el código genético tiene un carácter degenerativo, lo que significa la capacidad de que un mismo aminoácido sea codificado por varios tripletes diferentes. Por ejemplo, la alanina se codifica por los tripletes *ACG*, *CCG*, *UCG* y *GCG*, en los cuales entran en todos los casos, los nucleótidos citosina y guanina. En el año 1966 ya habían sido estudiados 61 tripletes de 64 posibles y para los 20 aminoácidos fueron encontrados sus codones (fig. 179).

El idioma en el cual la célula transmite sus órdenes genéticas para la síntesis de las moléculas de proteína resultó ser de carácter extraordinariamente universal. En el experimento realizado por G. Ehrenstein y F. Lipmann en 1961, las moléculas de RNA*m* y los ribosomas fueron extraídos de los reticulocitos de conejo, y el RNA de transferencia, de las células de *E. coli*. En un sistema acelular se sintetizaron las proteínas análogas a las de la hemoglobina del conejo. Estos polipéptidos podían formarse sólo en el caso en que los anticodones en el RNA*t*, de *E. coli* correspondieran a los codones en las moléculas de RNA*m* del conejo.

En ciertas condiciones *in vitro*, el código puede ser ambiguo, lo que significa que un triplete puede codificar varios aminoácidos. De esta forma, el codón *UUU* en condiciones normales codifica al aminoácido fenilalanina. Sin embargo, cuando los ribosomas fueron tratados con estreptomicina, este codón comenzó a codificar también a la isoleucina y a la serina. A baja temperatura y alta concentración de iones de Mg^{++} se presenta también la ambigüedad en la acción del código.

El fenómeno de la degeneración cuando varios codones responden a un aminoácido, demuestra que el anticodón de una determinada molécula de RNA*t* es capaz de identificar varios codones. En 1966 para definir esta particularidad de los anticodones Crick, propuso la hipótesis del bamboleo (*wobble hypotesis*) de acuerdo con la cual el anticodón reconoce sólo la base en la primera y segunda posición en el codón. Gracias a la formación de los enlaces entre la primera y segunda posición, la posibilidad de enlace con la tercera base se facilita y tiene lugar la complementación con distintos elementos terceros del codón. De este modo el uracilo del anticodón en la tercera posición puede unirse con la adenina

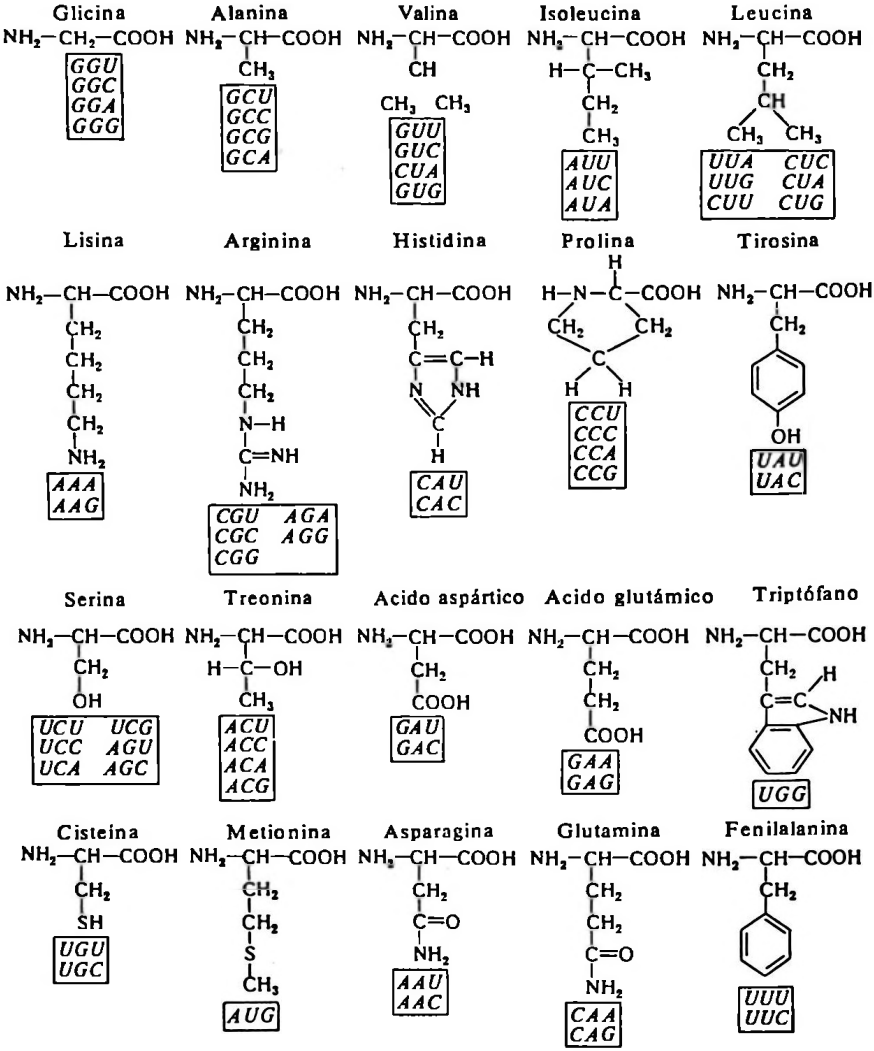


Fig. 179. Los 20 aminoácidos que se polimerizan en proteína

Bajo cada uno de los aminoácidos se muestran los codones que determinan su disposición de la estructura inicial

y la guanina; la citosina, con la guanina; la adenina, con el uracilo; la guanina con el uracilo y la citosina; la inosina, con el uracilo, la citosina y con la adenina. Estas posibilidades tan diversas crean el «bamboleo» de los anticodones, es decir, la capacidad de unirse con diferentes codones que codifican el aminoácido en cuestión.

El código genético se caracteriza por no recubrimiento (fig. 180). Este principio fue demostrado mediante las investigaciones de mutaciones que afectan la síntesis de las proteínas. En el caso de que el código fuera recubrible las variaciones en un par de nucleótidos indefectiblemente debían conducir a la alteración en la traslación de los tres aminoácidos, ya que al tener un código que se recubre, cada uno de los nucleótidos entraría en tres codones. En realidad, los experimentos mostraron que las mutaciones hacen variar la traslación de un solo aminoácido, lo que indicó claramente que el código, no se recubre.

Por cuanto la molécula de DNA tiene carácter bifilamentoso, parece posible que hayan diferentes características estructurales

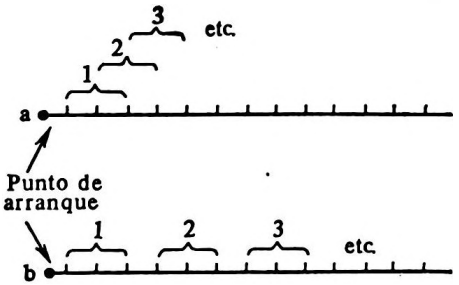


Fig. 180. Esquema del código de recubrimiento (*a*) y del no superpuesto (*b*)

del código. Es probable que el código se transcriba a partir de ambos polinucleótidos. Entonces en cada molécula de DNA se encuentran dos grabaciones paralelas de información genética. Finalmente, es factible que el código se transcriba sólo desde una cadena de polinucleótidos. Por lo visto, esto último es correcto, aunque la segunda cadena de ningún modo es inerte, tomando parte en la duplicación de la nueva molécula de DNA.

Para la teoría del código genético es fundamental la forma en que transcurre el proceso de transcripción.

En 1961 Crick y otros científicos, estudiaron las mutaciones de acridina en el fago *T4*, obteniéndose que la acción de las bases acridínicas tiene un carácter específico. La acridina provoca en los filamentos de DNA o una inserción de algunas bases nitrogenadas o su pérdida (fig. 181). Fueron obtenidos cambios supresores que ponen en claro los principios de la transcripción. Los supresores que reprimen la manifestación fenotípica de las mutaciones que surgían antes en la zona *r*II, aparecían cerca del site mutado inicialmente a una distancia no mayor que 1/4 de la longitud del cistrón. Físicamente el supresor también era una mutación, pero de signo contrario, es decir, que si la mutación era de inserción, el supresor fue deficiencia y a la inversa. El supresor puede ser

revelado en el cistrón mediante la recombinación, siendo en este caso una mutación ordinaria. Es necesario señalar que en presencia del supresor no se observa un restablecimiento completo del tipo salvaje, ya que en el sector desde la mutación inicial surgida hasta la mutación supresora, el código se mantiene alterado.

Estos hechos permitieron a Crick suponer que el código genético comienza a leerse desde el «punto a arranque» y que este

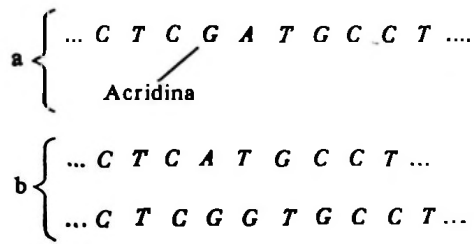


Fig. 181. Mutaciones en la cadena polinucleotídica de DNA bajo la acción de las acridinas

a—fragmento de un polinucleótido de DNA y la acción de la acridina sobre el nucleótido *G*, *b*—filamentos mutantes de DNA; arriba—deleción de la guanina, abajo—inserción de una base adicional

proceso de lectura transcurre en un sentido determinado. Por lo tanto, si tenemos el filamento de DNA en forma de una secuencia de bases (fig. 182), entonces la lectura del código en el gene normal va desde el triplete de arranque hacia la derecha. El surgimiento de la inserción (fig. 182, *b*, flecha) conlleva a que todos los tripletes después de la inserción varíen. Igualmente sucede cuando se pierde un nucleótido (fig. 182, *c*). Cuando aparece la deficiencia en el cromosoma que ya ha tenido la inserción (fig. 182, *d*), el código aparece alterado sólo entre los sites mutantes. En el primer caso la síntesis de la proteína está afectada; y en el segundo se restablece en gran medida. El hecho de la triplicidad del código en estos experimentos se deducía debido a que el filamento, que posee dos inserciones, altera la síntesis de la proteína, no obstante, después de añadir una tercera inserción (o la presencia a la vez de tres mutaciones de deficiencias) ése se restablecía (fig. 183).

El proceso de transcripción se limita a algunos segmentos de la molécula de DNA. Comenzando desde un determinado punto, distinto para diferentes segmentos en la molécula, la transcipción se interrumpe en el extremo del segmento. El papel de los puntos que limitan la transcripción lo asumen tres tripletes: *UAA*, *UGA*, *UAG*.

En 1963 R. H. Epstein y otros investigadores descubrieron en el bacteriófago *T4* una clase especial de mutaciones llamada

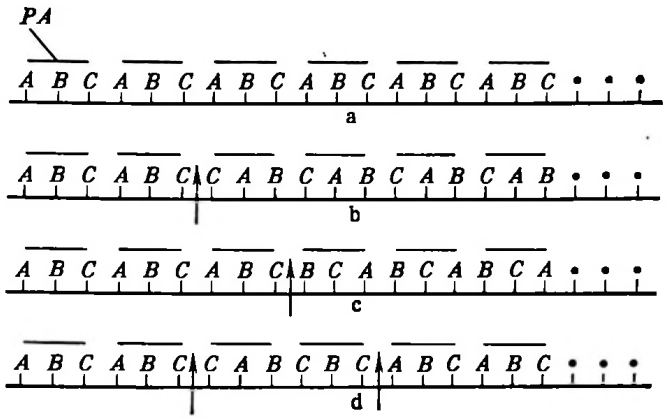


Fig. 182. Mutaciones en el bacteriófago como resultado de la pérdida de algunos nucleótidos y mutaciones inversas

a—código de un filamento normal de DNA en forma de tripletes *ABC*; *b*—inserción del nucleótido *C* y surgimiento de los tripletes alterados después de la inserción; *c*—deleción del nucleótido *A*; *d*—mutante doble, alteración de la codificación sólo entre la inserción y la deleción, función del cistrón se ha restablecido (mutación inversa); PA—punto de arranque de la lectura del código

por ellos mutación ámbar, se les llamó también *nonsense* (sin sentido). La aparición de estas mutaciones que da el codón *UAG* en la molécula de RNA*m*, interrumpe la síntesis del polipéptido, produciendo sólo sus fragmentos hasta el lugar en el gene, donde apareció el codón *nonsense*. Otro tipo de mutaciones que inte-

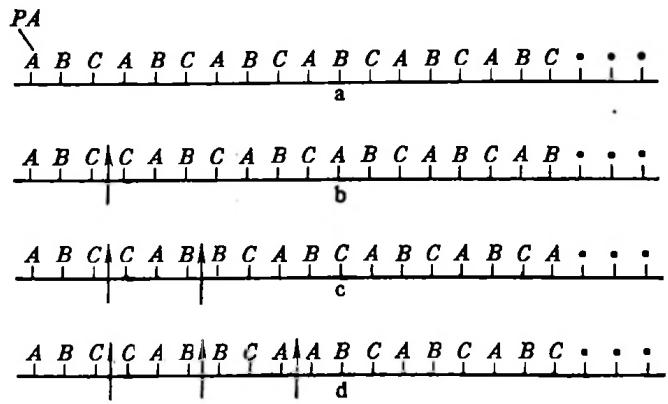


Fig. 183. Mutaciones del bacteriófago que contiene DNA cuando surgen una o dos inserciones de diferentes nucleótidos. Mutación inversa cuando aparecen tres inserciones

rrumpe la transcripción del código a las moléculas de RNA*m* son las «ocre», poseedoras del codón *UAA*. La mutación *nonsense* «ópalo» posee el codón *UGA*.

Actualmente los tres codones que interrumpen la lectura del código: *UAA*, *UGA* y *UAG* han sido denominados codones terminales. En la tabla 17 se presenta el cuadro general de los 64 codones en la molécula de RNA*m*, que incluye 61 codones, codificadores de cada uno de los 20 aminoácidos existentes y los 3 codones terminales.

Tabla 17

Código genético (de la molécula RNAm)

Primera posición en el codón (punto 5')	Segunda posición				Tercera posición (punto 3')
	U	*C*	*A*	*G*	
U	Fe	Ser	Tir	Cis	*U*
	Fe	Ser	Tir	Cis	*C*
	Leu	Ser	Term	Terminal	*A*
	Leu	Ser	Term	Trip	*G*
C	Leu	Pro	His	Arg	*C*
	Leu	Pro	His	Arg	*C*
	Leu	Pro	A Glu	Arg	*A*
	Leu	Pro	A Glu	Arg	*G*
A	Ileu	Tr	A Asp	Ser	*U*
	Ileu	Tr	A Asp	Ser	*C*
	Ileu	Tr	Lis	Arg	*A*
	Met	Tr	Lis	Arg	*G*
G	Val	Ala	Asp	Glu	*U*
	Val	Ala	Asp	Glu	*C*
	Val	Ala	Glu	Glu	*A*
	Val	Ala	Glu	Glu	*G*

¿Qué cosa es el punto de arranque en el cual inicia la transcripción? Según fue indicado más arriba, éste es el segmento de DNA que se reconoce por la molécula de RNA-polimerasa. Esta molécula se enlaza con un filamento de DNA y comienza la transcripción. El segmento del DNA reconocido por la RNA-polimerasa fue llamado promotor. En la fig. 184 se muestra una microfotografía electrónica de la RNA-polimerasa en el filamento de DNA. El inicio de la traslación del polipéptido por medio del RNA*m* también resultó estar relacionado con la presencia de determinada estructura.

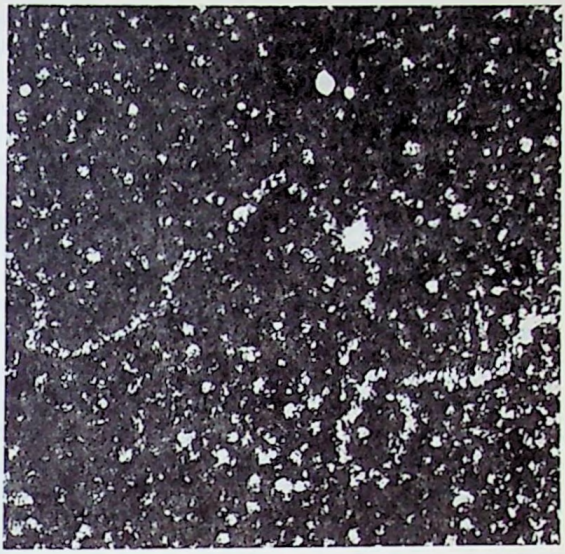


Fig. 184. Microfotografía electrónica de la RNA-polimerasa en el filamento de DNA

En 1966 M. R. Capecchi y su coautores llevaron a cabo la síntesis de las proteínas de *E. coli* en un sistema acelular a partir de las moléculas de RNA*m* cebadas. Resultó que muchas de las proteínas sintetizadas tenían forminmetionina en la posición terminal. Una serie de estudios posteriores demostró que el inicio de la traslación le corresponde al codón de metionina *ACG*. El reconocimiento del 5′ del codón terminal *ACG* como punto de arranque para la traslación se realiza con *F*-Met-RNA*t* específico. En las proteínas de *E. coli*, en la posición terminal N, aproximadamente en un 45% de los casos, hay Met y en los demás, otros aminoácidos. Por lo visto, al terminarse la traslación la *F*-Met, habiendo jugado su papel, abandona el polipéptido.

Los datos de la sustitución de los aminoácidos como consecuencia de las variaciones en los tripletes tuvieron una gran significación para el desarrollo de los principios del código genético. En los *E. coli* fueron obtenidos 6 mutantes con diversos defectos de la triptofansintetasa, la causa de los cuales fue la sustitución de la glicina en un punto específico de la cadena polipeptídica. En 1962 Henning y Yanofski investigaron estas mutaciones suponiendo que, en este caso, la cuestión tenía que ver con un triplete.

Todas estas mutaciones tuvieron lugar, partiendo de una posición anterior en que sufrió variaciones un nucleótido. Si esta hipótesis es cierta, entonces puede ser comprobada en experimentos

de recombinaciones, ya que el entrecruzamiento dentro del triplete debe variar su código. Por ejemplo, el cruzamiento entre una mutación *B* que codifica la arginina y la mutación *C* que codifica la valina, debe dar tripletes recombinados que codificarán a la serina y la glicina:

Mutante *B* — *UGC* — arginina
Mutante *C* — *UUG* — glicina

Si se produce el entrecruzamiento en el segundo segmento (*GC* y *UG*) deben surgir los recombinantes siguientes:

1 — clase de entrecruzamiento: *CGG* — tipo salvaje — glicina
2 — entrecruzamiento adicional; *UUC* — mutante — serina.

En los experimentos de transducción estos recombinantes fueron desprendidos y correspondieron totalmente a las predicciones.

En el caso de la anemia falciforme, en la hemoglobina humana, entre los 300 aminoácidos que entran en la composición de la hemoglobina, sólo uno está sustituido por la acción de la mutación. En la fig. 185 se muestran pequeños fragmentos del gene

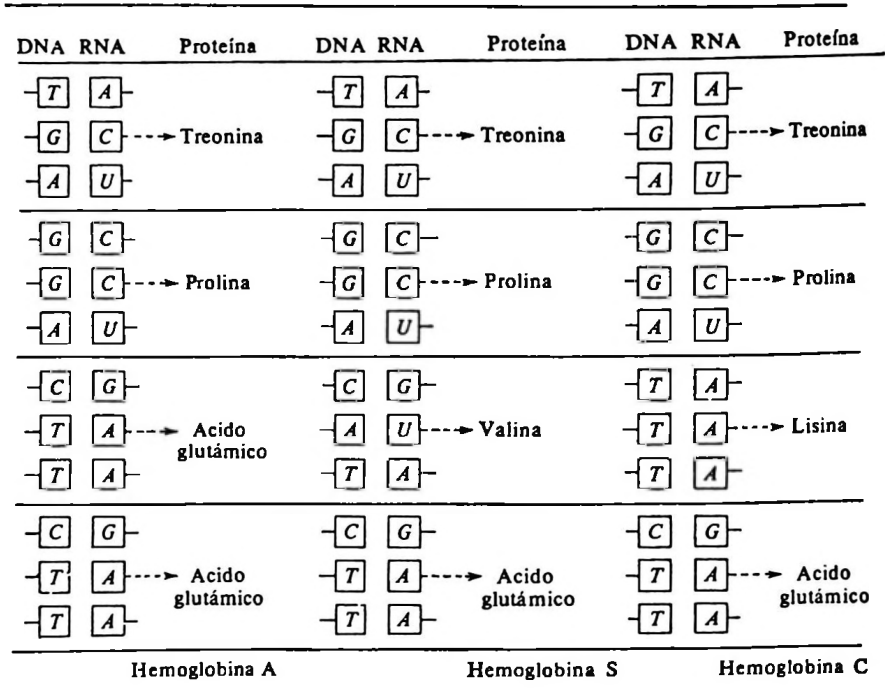


Fig. 185. Sustitución de los nucleótidos en los tripletes del código en el cistrón que determina la molécula de hemoglobina humana

de la hemoglobina humana y las variaciones elementales en los nucleótidos de su DNA y RNA*m* que conducen a la transformación de la hemoglobina Hb^A en hemoglobina Hb^S y Hb^C. Vemos que sólo cambia un codón. En el caso de la hemoglobina *S*, la mutación consiste en la sustitución de la timina por la adenina. La mutación que produce la hemoglobina *C*, está relacionada con el reemplazo de la citosina por la timina, además en el mismo lugar surge otro aminoácido (lisina). Como resultado de la transcripción de los codones modificados en lugar del triplete normal del RNA*m* en forma de *GAA*, tendremos *GUA* y *AAA*, respectivamente.

La teoría del código genético supone que los aminoácidos en la proteína se sitúan en una misma secuencia que los codones en el gene. Este punto de vista fue llamado carácter colineal, es decir, de la correspondencia lineal de los aminoácidos en la proteína con sus tripletes codificadores en el respectivo sector del DNA. La certeza de esta tesis fue demostrada experimentalmente.

REGULACIÓN DE LA ACCIÓN DE LOS GENES. Los genes, que controlan la síntesis de las proteínas enzimáticas por medio de la codificación de la disposición de los aminoácidos en la molécula proteica, fueron llamados genes estructurales. Sin embargo, resulta que el efecto de estos genes no es autónomo, ya que existe todo un sistema de genes que regulan la acción de los genes estructurales. Es bien conocido que las enzimas en la célula están representadas por dos clases: la de constitución y la de inducción. Las enzimas de constitución de la célula bacteriana en la misma se encuentran siempre, siendo independientes de las condiciones del medio. En lo que se refiere a las enzimas de inducción, éstas se forman solamente cuando existen determinados inductores. Este fenómeno se denomina inducción enzimática.

Además, en la célula hay sustancias que reprimen la síntesis de las enzimas. Estos dos mecanismos reguladores de represión e inducción permiten a la célula reaccionar de una manera dirigida al presentarse variaciones de las condiciones en el medio externo. El análisis de estos aspectos permitió descubrir el fenómeno de la regulación de la acción de los genes. Este trabajo fue realizado por Jacob y Monod en 1961. En la *E. coli* ocurre una serie de mutaciones en el locus de la lactosa, las cuales no permiten su fermentación. Hay un grupo de mutantes (*z*) que no sintetiza la enzima β-galactosidasa que hidroliza la lactosa en glucosa y galactosa. Otro grupo de mutantes (*y*) no sintetiza el componente especial de la membrana, que se denomina β-galactosidopermeasa (fig. 186). La β-galactosidasa es una enzima inducida y la lactosa, en este caso, es el inductor; por ello las células de *E. coli* de genotipo normal z^+y^+, teniendo β-galactosidopermeasa y recibiendo sólo la lactosa del medio, tienen la posibilidad de llevar a cabo la actividad del gene z^+ para elaborar la β-galactosidasa. Las

células del genotipo z^+y sintetizan mal la β-galactosidasa, ya que éstos no poseen β-galactosidopermeasa. El tercer gene en este sistema está ligado a la síntesis de la β-galactosidotransacetilasa. Resultó que la acción de este gene, así como la acción de los genes z e y es inducida por la lactosa, con la particularidad de que los niveles cuantitativos de elaboración de estas tres enzimas coinci den. Todo esto mostró la existencia de un control general sobre el grupo de tres genes estructurales ubicados en proximidad uno

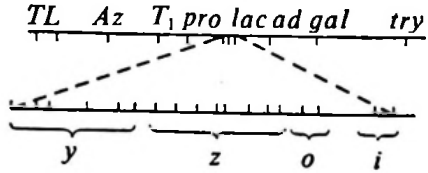


Fig. 186. Mapa del segmento de lactosa del genoma

En *E. coli*, indicando la disposición de los genes estructurales (*y*, *z*); el gene operador (*o*) el gene regulador (*i*)

de otro. Este tipo de región, donde hay un grupo de genes, cuya actividad se coordina con unidad. fue denominada por Jakob operón.

El análisis genético demostró que la inducción de los genes z^+ e y^+ no es su propiedad distintiva. Esta surge porque en el genotipo de estas células de *E. coli* está presente el gene i^+, que reprime la actividad de los genes z^+ e y^+ disminuyendo esta represión el inductor. Sin embargo, cuando se produce la mutación del gene i^+ en su alelo normal i inactivo la represión se elimina, y los genes z^+ e y^+ comienzan a funcionar sin inducción. Estos genes inducibles pasan a ser alelos constitutivos. Sin embargo, la sustancia del represor juega su papel sólo si reprime la acción del locus *o*. Si la actividad del gene *O* no fue reprimida, entonces éste pone en acción todo el conjunto de genes que constituyen el operón.

De esta manera, en nuestro caso el gene i^+ desempeña el papel de gene regulador, el cual, determinando la función de una serie de genes estructurales en el operón, influyendo a través de ellos en la síntesis de varias proteínas. El gene *O* funge como operador, transmitiéndole las órdenes del gene regulador a la especificidad de los genes estructurales. En la fig. 187 se muestra el esquema de regulación de los genes, apareciendo en ésta el cromosoma en forma de línea en la cual se encuentra localizado el gene regulador (*R*) y más a la derecha los tres genes enlazados (*O*, *A*, *B*). La ruptura de la línea entre el gene *R* y los genes del operón demuestra que el regulador puede encontrarse en otro cromosoma. Los genes *A* y *B* son genes estructurales que controlan la síntesis de las proteínas,

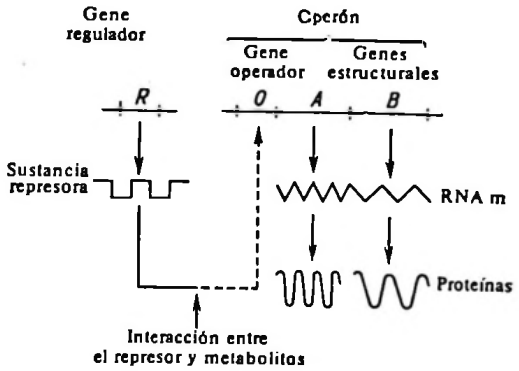


Fig. 187. Interrelación entre el gene regulador, el gene operador y los genes estructurales en el operón

correspondiendo a los genes descritos más arrba z^+ e y^+. La capacidad de estos genes de transcribir su información a la molécula de RNA*m* depende de la actividad normal del operador (*O*). Si el operador está reprimido por la sustancia del represor, los genes *A* y *B* pierden su constitución. El gene regulador corresponde al gene *i* que fue descrito para *E. coli*. La represión que se presenta puede ser eliminada bajo la influencia de sustancias metabólicas específicas que inactivan la sustancia del represor (en la fig. 187 la línea de trazos). Y es de esta forma que surgen los genes inducidos. En el caso descrito para *E. coli* la lactosa desempeña el papel de inductor (sustancia metabólica).

Mc-Clintock mostró la posible existencia del sistema de operones en las formas superiores. El color blanco del grano de maíz

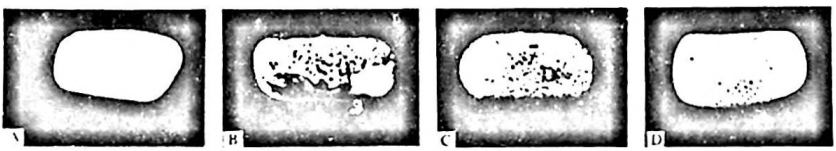


Fig. 188. Acción del gene activador en el surgimiento del gene disociante

A—grano blanco cuando está ausente el gene *Ac* y presente el gene *Ds* que reprime la acción del gene vecino de pigmentación; *B*—el gene *Ac* está presente, hay rupturas en el gene *Ds*, lo que produce el surgimiento de grandes sectores coloreados; *C*—están presentes dos genes *Ac*, el momento de la acción del gene *Ds* se atrasa surgiendo pequeñas manchas; *D*—hay tres genes *Ac* presentes, surgen manchas muy pequeñas (según B. McClintock)

(fig. 188, *A*) surge en presencia del gene disociante (*Ds*) que es un supresor dominante. Este mismo gene provoca el surgimiento de roturas de los cromosomas en las regiones cercanas a él. Normalmente el gene *Ds* está localizado cerca del gene de la pigmentación y en este caso su acción se revela totalmente: los granos

resultan blancos. Si en el momento de la ruptura, aún en el período anterior a la formación del grano, éste se separa del gene de la pigmentación, los granos se presentan completamente pigmentados. Si la separación del gene *Ds* del gene fundamental de la pigmentación sucede en el proceso de formación de los granos, entonces surgen, en un fondo blanco, los puntos pigmentados y las manchas, cuya magnitud depende del estadio en el cual se produjo la ruptura de los cromosomas. Al llegar a otras secciones el gene *Ds* comienza a reprimir a sus nuevos vecinos.

La capacidad del gene *Ds* de provocar roturas de los cromosomas se controla mediante el gene activador (*Ac*) localizado nominalmente en el otro cromosoma. Fueron obtenidas plantas de maíz sin el gene *Ac* así como también con uno, dos o tres genes *Ac* en presencia de un gene *Ds* localizado junto al gene fundamental de la pigmentación (véase fig. 188). Al faltar el gene *Ac* el grano se presenta totalmente blanco (fig. 188, *A*). Esto atestigua que en ausencia del gene *Ac* el propio gene *Ds* no provoca la rotura de los cromosomas y el mismo no puede separarse del gene fundamental de la pigmentación. En presencia del gene *Ac* (véase fig. 188, *B*) surgen manchas coloreadas. Cuando es aumentada la cantidad de genes *Ac* hasta dos o tres, las manchas coloreadas se tornan menores (véase fig. 188, *C* y *D*). Lo anterior demuestra que la acción del gene *Ac* está relacionada también con la demora del momento de las rupturas de los cromosomas. Todo esto constituye una demostración de que el gene *Ac*, evidentemente actúa como gene regulador. El gene *Ds* funge como gene operador.

Surge ahora el problema acerca de cómo se realiza la transcripción de la información genética del operón. ¿Abarca la lectura a todo el operón o ésta se realiza por los genes estructurales por separado? Existen datos que evidencian que la lectura del código abarca al operón íntegro, ya que él produce una molécula larga de RNA mensajero, que es un sistema unificado de traslación en la síntesis de los polipéptidos. En este caso se observa que hay polaridad, es decir, la lectura de las moléculas de RNA*m* va de un locus a otro, siendo RNA*m* que produce el operón una molécula unida, ella debe, no obstante, ser dividida en vocablos que son la información intermitente de varios genes estructurales. En las pruebas realizadas con la salmonella al analizar el operón de histidina, fue establecido que la cantidad de polipéptidos para los genes cercanos al operón, era mayor que para los que estaban distantes a él. Con lo dicho se demostró que la información del operón se lee comenzando a partir del lugar de ubicación del gene operador. Esta lectura tiene carácter intermitente para cada uno de los genes estructurales. De esta forma la disposición de los genes en el operón no es casual, reflejando distinta demanda de la célula de diferentes enzimas. El esquema del operón expuesto es sólo una de las posibilidades, aunque muy importante, entre la

diversidad de formas de regulación de los genes en la célula. Recientemente se logró aislar el represor en las bacterias, aclarándose su naturaleza química. Queda por delante la tarea de desentrañar las leyes fundamentales de la regulación de la actividad de los genes en las células animales y vegetales, la cual, por lo visto, debe diferenciarse mucho de la regulación en los microorganismos. En este caso debe esperarse una mayor coordinación del trabajo de los genes que en las bacterias y, en particular, de la coordinación del trabajo de diferentes grupos de genes (operones). Además, para la regulación de la actividad de los genes en los organismos superiores, por lo visto, es característica una represión más regurosa de los genes, lo que se mantiene establemente en los procesos de diferenciación. Es posible que existan dos mecanismos de regulación: la inhibición estable de los genes en la diferenciación y la regulación lábil (operativa) en el funcionamiento de las células especializadas. La inducción o depresión del operón están relacionadas con el aumento de la síntesis del RNA*m* específico. Esto demuestra que la dirección del funcionamiento de los operones tiene lugar al nivel de la transcripción.

Un aspecto muy importante, sin cuyo conocimiento es imposible alcanzar la comprensión de la regulación diferencial de diferentes genes, es la naturaleza del «reconocimiento» por el inductor y el represor de los loci específicos de DNA. Es posible que en tal «reconocimiento» tomen parte las proteínas y el RNA, que entran en la composición del cromosoma.

La regulación de la transmisión de la información genética del DNA a las proteínas en las células de los organismos superiores, por lo visto, no imprescindiblemente sucede al nivel de la transcripción de los genes. Las moléculas de RNA*m* formadas en el DNA pueden encontrarse en estado inactivo, estando asociados a la proteína en la composición de partículas especiales de RNA. Estas partículas han sido encontradas en una serie de especímenes, sin embargo, se desconoce totalmente de qué manera se lleva a cabo la selección entre un gran número de partículas que contengan el RNA mensajero que sería sometido a la lectura y la «opción» de los otros.

Ultimamente se han alcanzado marcados éxitos en el estudio de la naturaleza y la regulación genética de la morfogénesis, fundamentalmente en los virus y estructuras subcelulares. El esclarecimiento de las etapas de montaje de las partículas de fago y la reconstrucción de los ribosomas permiten confiar, que será posible entender de qué manera las moléculas se «reconocen» una a otra al reunirse en las bioestructuras, cómo y por qué tiene lugar la unión de las células en el proceso de la morfogénesis de los órganos y tejidos. Esto permite, a fin de cuentas, dirigir la morfogénesis en el organismo en condiciones artificiales.

Se abren nuevas posibilidades de estudio de la genética de las células somáticas y de la regulación de las síntesis de las macro-

moléculas, debido a la posibilidad de obtener una hibridación efectiva de los animales y de las células en cultivos. Ha sido demostrado que el tratamiento de las células con algunos virus muertos simplifica la fusión de las células heterogéneas, con la particularidad de que en las células híbridas tiene lugar la fusión de los núcleos, manteniéndose las dotaciones cromosómicas de las células iniciales, teniendo lugar las mitosis y los procesos de biosíntesis de los ácidos nucleicos y de las proteínas. Se pudo encontrar una derepresión de los genes (más exactamente una derepresión de la síntesis del RNA) en los núcleos de las células diferenciadas y en la hibridación con células que se dividen activamente.

En los últimos años han sido obtenidos nuevos datos acerca del papel de las membranas celulares en los procesos de regulación de la función genética de los ácidos nucleicos y de la división celular. Por medio de los agentes específicos que actúan sobre la envoltura de la célula se logra influir efectivamente sobre estos procesos. En los años sucesivos es posible que sean aclarados los mecanismos de esta influencia, los cuales pueden jugar un papel muy importante en la naturaleza de la interacción celular, en su crecimiento y reproducción. Esto, junto con la duplicación del cromosoma tendría una significación decisiva en la dirección del proceso de la división celular, que es especialmente necesario para resolver el problema del crecimiento maligno de las células.

Las investigaciones de la regulación de la actividad de los genes tiene un gran futuro, pues están predestinadas a controlar el desarrollo individual y la actividad vital de la célula. El éxito de estas investigaciones ejercerá una influencia decisiva en la lucha contra las infecciones virales, contra el cáncer, en la regulación de la histoincompatibilidad y en las reacciones generales de la inmunidad.

El problema de la regulación de la acción de los genes está en correspondencia directa con el estudio del mecanismo de lectura de la información genética que también se estudia intensamente en la actualidad. La idea del código se ha lanzado igualmente en la rama de las bases moleculares de la Neurobiología. Hasta ahora nadie puede entender el idioma molecular del sistema nervioso y su código, por medio del cual se registra la memoria. Sin embargo, la justeza de la idea de la existencia del código para la «grabación» de la información recibida por el sistema nervioso no deja lugar a dudas. Puede pensarse que los fenómenos moleculares que constituyen la base de esta «grabación» están condicionados por la síntesis o la reconstrucción de las macromoléculas. A favor de este punto de vista hablan los resultados de los experimentos de la acción de los inhibidores y estimuladores de la síntesis del RNA y la proteína sobre el proceso de aprendizaje en los animales. Es indudable que un estudio detallado de estos procesos será un impulso a la interpretación de las bases moleculares de la actividad nerviosa y a las posibilidades de dirigirla.

AGRUPACIÓN DE LOS GENES SEGÚN EL CARÁCTER FUNCIONAL EN LOS CROMOSOMAS DE LAS PROCARIOTAS. Los cromosomas de las procariotas (virus, bacterias) están compuestos de DNA puro. A diferencia de ellas en las eucariotas (formas superiores) los cromosomas están compuestos de DNA y proteínas. La genética de las procariotas encontró magníficas pruebas de agrupaciones de genes de acuerdo con el principio funcional.

Un ejemplo claro de este tipo es la región histidínica en la salmonella según los datos de Demerec. En este caso diez diferentes genes histidínicos condicionaron once etapas en la síntesis de la histidina en la *Salmonella typhimurium*, colocados en el

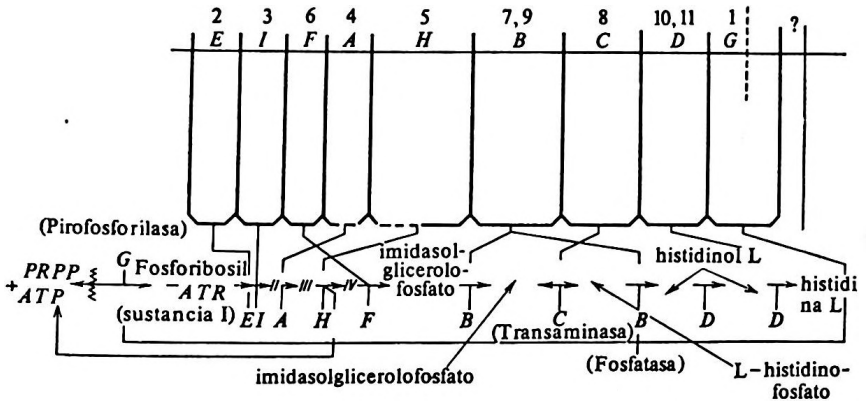


Fig. 189. Mapa de la región histidínica de la *Salmonella typhimurium*, orden de colocación de los genes y síntesis de las proteínas

orden de sucesión de los escalones bioquímicos de síntesis. Además, todo este grupo de genes está funcionalmente coordinado (fig. 189). Su operador, por lo visto, está colocado a la derecha del gene *G*. En el mapa genético del fago *T4*, hemos visto que los genes en el genoma del fago están dispuestos de acuerdo con la generalidad de las funciones dentro de los grupos de genes. De esta manera, el grupo de los genes cercanos 45, 44, 43, 42, 41 tienen que ver con la síntesis del DNA, y el grupo de genes 34, 35, 36, 37, 38 controla la síntesis de la cola, etc.

El mapa genético del fago lambda también contiene agrupaciones funcionales de genes. Su acción puede revelarse cuando se transforma en profago y durante su reproducción vegetativa. Los genes del primero, segundo y tercer grupos garantizan las etapas tempranas del desarrollo hasta el paso a la reproducción vegetati

va. Los genes del cuarto grupo *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F* en el caso de sus mutaciones bloquean diferentes etapas de maduración de las partículas de fago hasta que aparece el DNA mensajero. El grupo genético *M*, *I*, *J*, *K*, α garantiza estadios más tardíos y la formación de las partículas maduras del fago. De esta manera el orden de los genes en el mapa genético del fago lambda se encuentra en correspondencia con el orden de aparición de las funciones de estos genes en los procesos de crecimiento del fago.

La complicación del desarrollo individual en las eucariotas condujo a la alteración de la correspondencia simple entre las funciones de los segmentos cromosómicos y las celulares. Como resultado dentro del genotipo se crearon relaciones más libres entre los genes, lo que trajo como consecuencia la desaparición de una difusión tan grande de los sectores funcionales en los cromosomas característicos de las procariotas.

CONTROL DE LOS PROCESOS DE DUPLICACIÓN. En 1963 Jacob y Brenner propusieron la hipótesis del replicón como una unidad rectora de la duplicación de las moléculas de DNA. La dirección tiene lugar debido a la existencia de un cistrón estructural que elabora la sustancia en forma de iniciador citoplasmático de duplicación. La sustancia del iniciador es reconocida por el replicador que ocupa la posición terminal en el replicón sirviendo del punto inicial para la replicación. Los replicones independientes son moléculas de DNA de virus, cromosomas de bacterias, DNA de factores *F*, DNA de las plasmidas, etc.

En las eucariotas hay, por lo visto, todo un complejo de replicones ligados a las estructuras lineales de los cromosomas. Según Haberman y Riggs (1968) un cromosoma humano de dimensiones medias contiene no menos de 100—150 replicones, de 30—50 μ. También hay replicones en forma de moléculas de DNA de mitocondrias, centríolos y cloroplastos. En algunos casos de duplicación de algunos replicones, éstos saturan las células; de esta forma la cantidad de DNA en las mitocondrias en el óvulo de los anfibios crece 300—500 veces.

En las bacterias los cromosomas y episomas *F* forman una unidad de segregación. Esto es debido a la acción reguladora de la pared celular, con la cual ellos están ligados en la duplicación, lo que excluye su separación casual en células hijas. Los datos analizados de la regulación de la acción de los genes y de las duplicaciones de las moléculas de DNA muestran que no sólo los principios del código genético, sino también los principios de la regulación de su acción y reproducción tiene un carácter universal. Los principios de la regulación estuvieron sometidos a profundos procesos de evolución por el camino de las formas progresivas y desviadoras, sin embargo, en el fondo, ellos son únicos para todas las formas orgánicas.

EFECTO DE POSICIÓN DE LOS GENES. El fenómeno del efecto de posición de los genes fue descubierto por A. Sturtevant en 1925 tomando como ejemplo el gene *Bar* de la *Drosophila*. Este caso durante mucho tiempo se mantuvo como único. Después de ser descubierta la posibilidad de obtener bajo la acción de los rayos X la reorganización de los cromosomas en cantidades en masa y por medio de esto obtener números ilimitados de disposiciones nuevas multifacéticas de los genes, este problema se volvió a estudiar. Sin embargo, la aparición múltiple del caso del efecto de posición de los genes no fue descubierta. Parecía que este fenómeno era propio solamente de la duplicación *Bar*.

En 1934 N. P. Dubinin y B. N. Sídorov describieron dos nuevos casos evidentes del efecto de posición en la *Drosophila*. Uno se refería al alelo normal del gene *Cubitus interruptus* ($+^{ci}$, *IV* cromosoma), el segundo, al alelo normal del gene *hairy* ($+^{h}$, *III* cromosoma). Las mutaciones recesivas de estos alelos dieron, en el primer caso, (*ci*) interrupciones de las venas en el ala, en el segundo (*h*) la pérdida de una serie de quetas en el cuerpo de la mosca.

En el caso $+^{ci}$ fue demostrado que el paso de este gene a otro cromosoma y a causa de esto, la aparición de una nueva vecindad genética, provoca la pérdida de la dominancia. En los individuos heterocigóticos para el alelo recesivo ($+^{ci}/ci$) al perder el gene $+^{ci}$ de su dominancia, comenzaron a manifestarse los caracteres de interrupciones en las venas de las alas.

Este efecto de la pérdida de la dominancia por el gene $+^{ci}$ al variarse la posición del gene en el cromosoma, fue muy fácil de reproducir; la cantidad de estos casos dependía exactamente de la dosis de radiación que se diera. Todo esto le permitió ser uno de los tests fundamentales en el análisis cuantitativo de los efectos mutagénicos. N. P. Dubinin, N. N. Sokolov y G. G. Tiniankov sometieron el fenómeno del efecto de posición a un detallado análisis citológico en los cromosomas gigantes de las glándulas salivales y mostraron las secciones donde se rompía el *IV* cromosoma que daba el efecto de posición del gene $+^{ci}$.

En el caso del gene $+^{h}$ en una de las translocaciones también fue encontrada la pérdida de la dominancia después de su transporte en la translocación. En este caso también el alelo normal perdió la propiedad de dominar al variar su vecindad génica. Sin embargo, resultó que en este caso la ruptura en el cromosoma *III* donde se encuentra localizado el gene $+^{h}$ tuvo lugar relativamente lejos de su localización. Esto permitió obtener formas entrecruzadas entre el lugar de ruptura y el gene variado $+^{h}$. Al efectuarse estos *crossoveres* se produjo que el gene variado por el efecto de posición $+^{h}$ se transformó nuevamente en un alelo totalmente normal $+^{h}$. De esta forma se obtuvo una demostración directa acerca de que el efecto de posición es una variación inestable del

mismo gene del tipo de mutaciones. La variación de las propiedades en el efecto de posición resultó ser reversible. Al volver el gene a la vecindad genética de partida reaparecen en él las propiedades iniciales del alelo normal dominante.

El descubrimiento del efecto de posición virtió nueva luz sobre la organización del material genético del cromosoma. El cromosoma, a la vez que es discreto presentó rasgos de organización integral. El material genético en determinada medida resultó ser una continuidad de orden superior.

En las investigaciones de la Genética molecular de los fagos y bacterias, la teoría del efecto de posición recibió una nueva interpretación. A la luz de la teoría de los operones son totalmente comprensibles las consecuencias que tendrán lugar en la acción del gene, si en este caso los genes estructurales se separan de su operador y se unen a un operador ajeno, dirigido por otro gene operador. En este caso la actividad de este grupo trasladado de genes estructurales se encuentra subordinada a su nuevo sistema de regulación. De este modo Jacob, Wollman y Monod obtuvieron en *E. coli* la deleción que unía el fragmento de operón de lactosa con el mismo de purina. Como resultado de esto último surgió un nuevo operón complejo, productor, por lo visto, del RNA*m* unido, portador de la información genética para la síntesis de dos tipos diferentes de proteína que toman parte en la biosíntesis de las purinas y lactosas. Sin embargo, los genes regulador y operador para todo este operón complejo pertenecen al sistema de un operón de purina, y por eso surgió una represión totalmente insólita en la síntesis de las proteínas en la zona de lactosa al añadir al medio purinas. En este caso el fenómeno del efecto de posición recibió una interpretación precisa con los conceptos de la genética molecular.

FENÓMENOS DE COMPENSACIÓN, PROBLEMAS DE INACTIVACIÓN DEL CROMOSOMA *X* EN LOS MAMÍFEROS Y EFECTO DE POSICIÓN DE LOS GENES. Los datos obtenidos en el estudio sobre la manifestación de dos dosis de genes de cromosomas *X* en la hembra y una dosis de genes de un cromosoma *X* en los machos de la *Drosophila* demostraron su equivalencia, lo que les permitió a C. Stern en 1929 y a H. J. Muller en 1931, enunciar el concepto de la compensación de dosis. Según Muller el mecanismo de esta compensación está relacionado con la acción del regulador ligado al sexo en forma de gene compensador, que estando presente en las hembras en número doble, disminuye la actividad de la dosis doble de genes, llevándola al nivel de una sola. En los machos, donde está presente el gene compensador solo, este mecanismo no funciona.

El cuadro de la compensación de dosis se conoce para los mamíferos incluyendo el ser humano. El hombre tiene un gene recesivo ligado al sexo, el cual garantiza la síntesis de la enzima de la

glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G-6-FD). Los eritrocitos femeninos (*XX*) y masculinos (*XY*) tienen exactamente la misma cantidad de este pigmento.

En 1961 M. E. Lyon e independientemente de él A. B. Russell propusieron la hipótesis de que en los mamíferos la compensación de dosis en la acción de los genes localizados en el cromosoma *X* se provoca por la inactivación de uno de los dos cromosomas *X* que existen en las células de las hembras. Las observaciones citológicas llevadas a cabo por M. L. Barr en 1959 demostraron la existencia de corpúsculos especiales en la membrana nuclear de los núcleos interfásicos de la mujer y que no existen en el varón. Estas formaciones fueron llamadas corpúsculos de Barr. Estos últimos resultaron ser los cromosomas *X* heterocromatizadoss; su cantidad en las hembras normales (*XX*) es igual a uno, en los trisómicos (*XXX*) es igual a dos y en las especies de *4X*, su número es igual a cuatro. De este modo todos los cromosomas sexuales femeninas, a excepción de uno, pasan al estado no funcional heterocromatínico. El enlace de los genes con la heterocromatina, según demostraron los experimentos en *Drosophila*, conlleva a la pérdida de las funciones, así en el cromosoma sexual, en su extremo izquierdo, está localizado el gene de la pigmentación roja normal de los ojos. En la reestructuración cromosómica, en la cual este gene se une a la heterocromatina, puede surgir el fenómeno de la heterocromatización de la propia región de este gene. Producto de esto último, surgen las moscas de los «ojos moteados» en los cuales, entre las regiones de color rojo, aparecen sectores de color blanco.

Con la pérdida del funcionamiento de los genes en todo el cromosoma, por lo visto, nos encontramos con la regulación de todos los operones a la vez que integran este cromosoma. En el análisis de la manifestación de los caracteres G-6-FD en las hembras heterocigóticas, fueron obtenidos muchos datos interesantes. Resultó que en la célula no hay una cantidad intermedia de enzimas, sino que éstas existen en cantidades normales o propias a los homocigotos para el alelo recesivo. Esto indica que en las células femeninas, de dos cromosomas sexuales funciona uno de los dos: el normal o el mutado, lo cual aclaró a la vez que la esencia de la compensación de dosis radica en que en las células de la mujer funciona uno de los cromosomas sexuales que la iguala en este sentido con las células masculinas. De esta forma en la heterocigosis un individuo *XX* actúa como un mosaico funcional.

En 1963 R. G. Davidson y otros demostraron la existencia real de este tipo de segregación en los clonos de las células epidérmicas de los mamíferos. En el hombre hay dos alelos del gene de la enzima glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa, los cuales producen las dos enzimas diferentes *A* y *B*, la existencia de las cuales se determina por medio de la electroforesis. En los pedazos de piel, obtenidos mediante la biopsia, se encuentran ambas enzimas *A* y *B*.

Sin embargo, al obtenerse los cultivos clonales de algunas células epidérmicas, en estos clonos aparece una enzima: la *A* o la *B*, lo que demuestra que en cada célula funciona sólo uno de los cromosomas *X*.

Un análisis especial de la naturaleza de la compensación de dosis según los genes, ligados al sexo fue llevado a cabo en los ratones utilizando la translocación mutua entre el cromosoma *X* y uno de los autosomas. Las hembras, heterocigóticas por la translocación, frecuentemente presentan mosaicismo cuando el alelo normal se incorpora a la translocación, y en el cromosoma estándar hay un alelo recesivo (fig. 190). En este caso nos encontramos con el mosaicismo, surgido por el efecto de posición del gene normal (+). El grado de manifestación del efecto de posición del gene, en este caso, depende de la distancia en la posición del gene + del lugar de ruptura en el cromosoma en el segmento translocado del autosoma. Cuanto más cercana sea esta posición tanto más fuerte se manifestará el efecto de posición del gene. Cuando el gene + está suficientemente distante del lugar de ruptura en el cromosoma *X* el mosaísmo desaparece.

Sin embargo, cuando ocurren rupturas prácticamente idénticas en la translocación mutua, el mosaísmo descrito anteriormente

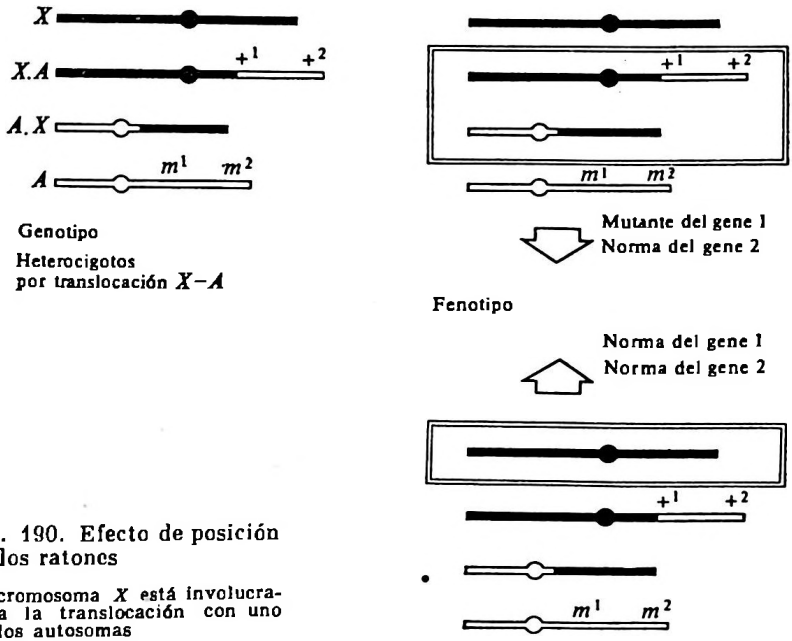


Fig. 190. Efecto de posición en los ratones

El cromosoma *X* está involucrado a la translocación con uno de los autosomas

Fig. 191. Autorreproducción de los cromosomas humanos

El núcleo contiene 44 autosomas, cuatro cromosomas *X* y un cromosoma *Y*. El cromosoma *X* aparece en los círculos. Uno de ellos se atrasa en la síntesis, contiene pocas marcas (según U. Mittwoch, 1963)

suele no aparecer. Esto, por lo visto, está relacionado con el carácter de inactivación del cromosoma *X*. Cuando hay mosaísmo el cromosoma *X* incorporado a la translocación se inactiva (se heterocromatiza), dándole posibilidad de manifestarse al efecto de posición del gene +.

El efecto de posición de este tipo puede estar relacionado con la actividad de variación en la función de los genes. Los genes y los cromosomas que han sufrido la inactivación pueden autoduplicarse y transmitirse por generaciones. Así, el corpúsculo de Barr que es un cromosoma *X* heterocromatizado se autorreproduce como una estructura cromosómica. Sin embargo, el análisis autorradiográfico ha demostrado que la heterocromatina en las células de las hembras se atrasa en la duplicación (fig. 191).

REGULACIÓN GENÉTICA EN

LA ACCION DE LOS GENES QUE DETERMINAN DIFERENTES FORMAS DE LA HEMOGLOBINA HUMANA. El estudio del mecanismo de síntesis proteica demostró que la función principal de los genes estructurales consiste en la determinación de la secuencia específica para cada una de las proteínas, de los aminoácidos en la cadena polipeptídica.

Sin embargo, no todos los genes determinan la estructura primaria de las enzimas de las proteínas; sino que una serie de éstos juega el papel de mecansimos reguladores. Esto se ve muy bien en el ejemplo de la determinación génica de la síntesis de la molécula de hemoglobina en el hombre. Como se dijo anteriormente,

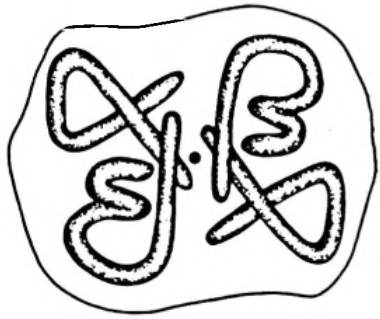


Fig. 192. Cadenas α y β de la molécula de hemoglobina

la molécula de hemoglobina está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas: idénticas dos α y dos β (fig. 192).

Anteriormente también se dijo que la variación de las hemoglobinas, como la transformación de la hemoglobina Hb^A en Hb^S, está condicionada por la sustitución de uno de los aminoácidos en la cadena β. Es esencial el hecho de que la hemoglobina en una persona adulta normal (Hb^A) se diferencia marcadamente de la misma en los embriones humanos, los cuales, en lugar de Hb^A, contienen la embrionaria Hb^S. La diferencia entre ellos se refiere a la cadena β. En la hemoglobina del feto esta cadena está sustituida por otra cadena polipeptídica completamente distinta γ, cuya síntesis se controla por su propio gene.

Finalmente, en la sangre de los seres humanos adultos se ha encontrado, en pequeña cantidad, hemoglobina Hb^{A_2}, en la cual la cadena β está sustituida por una cadena σ. Estos cuatro tipos de hemoglobina: Hb^A, Hb^{A_2}, Hb^S, Hb^F se controlan por genes particulares. El locus α^A determina la formación de la cadena α, siendo efectivo durante toda la vida y garantizando la existencia de la cadena α en los cuatro tipos de hemoglobina indicados. El locus β^A rige la síntesis de las cadenas polipeptídicas β en la hemoglobina Hb^A. La acción de este locus es efectiva sólo después de haber nacido el feto. El locus γ^F determina la síntesis de las cadenas polipeptídicas γ en la Hb^F. Este locus ejerce su efecto durante la vida intrauterina. El cuarto locus, el σ^{A_2} subordina la formación de las cadenas polipeptídicas en la hemoglobina Hb^{A_2}, actuando durante toda la vida después del nacimiento. Las cadenas α, β, γ y σ en combinación con las cadenas α dan cuatro tipos de hemoglobina. Los loci σ^A y β^A demostraron una fuerte enlace en el cromosoma.

En la fig. 193 se muestran las interrelaciones de cuatro genes diferentes de las hemoglobinas que conducen a la aparición de la Hb^F en el feto, así como también de la Hb^A y Hb^{A_2} en los seres humanos adultos. Cada uno de los genes estudiados de la hemoglo-

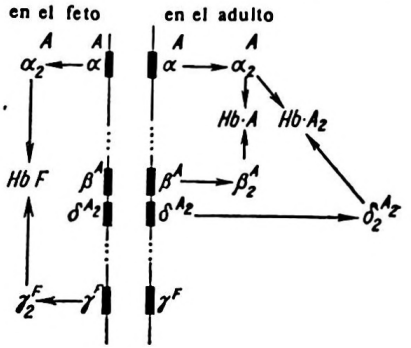


Fig. 193. Control genético de la síntesis de la hemoglobina en el hombre

bina β^A, σ^{A_2}, γ^F y α^A puede ser llamado gene estructural, ya que de inicio ellos determinan la secuencia de los aminoácidos, es decir, la estructura primaria de la cadena polipeptídica. Esta última determina la aparición de las estructuras secundaria (en espiral) y terciaria (plegada), así como las propiedades físicas y la actividad de la molécula de proteína. Después, la unión de las cadenas polipeptídicas de distinto tipo conduce a la formación de las moléculas de las proteínas de diferentes hemoglobinas.

En la acción de los genes α^A, β^A, γ^A y σ^{A_2} hay una cooperación compleja gracias a la cual surgen los cuatro tipos de hemoglobina. Sin embargo, en todo esto el efecto de los genes estructurales de las hemoglobinas se encuentra bajo la influencia de los genes reguladores complementarios. La acción del gene regulador es debida a la sustitución de la hemoglobina Hb^F del feto por la hemoglobina Hb^A en el adulto. En este caso, actúa un gene especial, el «interruptor», que condiciona la detención de la acción del gene γ^F y la puesta en acción del gene β^A. Como resultado la hemoglobina del feto, después de terminado el período embrionario se convierte en hemoglobina de individuo adulto. En los homocigotos para el gene γ^F, con alto contenido de hemoglobina Hb^F en la sangre del feto, además de la ausencia de la hemoglobina Hb^A falta también la «pequeña» hemoglobina Hb^{A_2}.

Todo esto indica que para el final del período embrionario tiene lugar la represión del gene γ^2 a la vez que se produce la inclusión de los genes β^A y σ^{A_2}, posiblemente mediante la acción del gene operador general.

Por cuanto los genes β^A y σ^{A_2}, están localizados en cercanía directa y se incluyen en la acción simultánea, por lo visto, en este caso nos encontramos con el trabajo del operón para algunos genes vecinos de la hemoglobina en el hombre. El gene regulador, cuyo represor es suprimido en el momento del nacimiento está situado en otro punto independiente del cromosoma o en otro cromosoma (fig. 194).

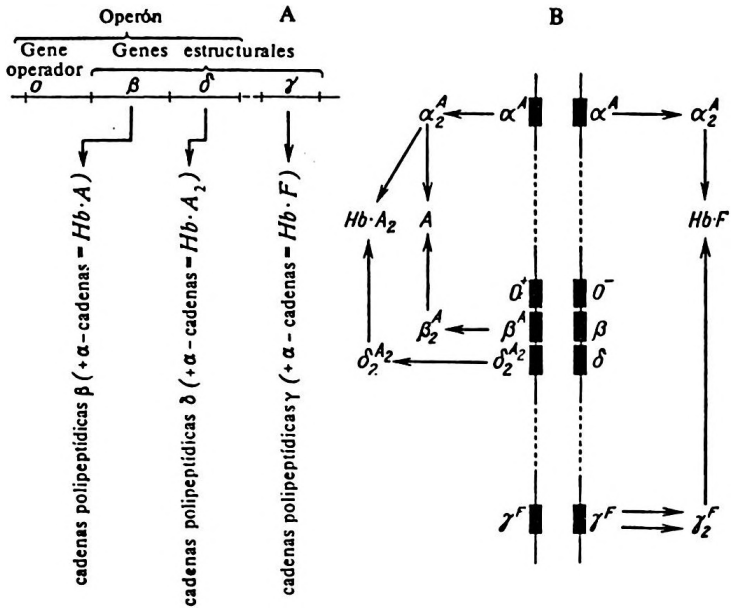


Fig. 194. Acción del gene operador en el control sobre la síntesis de la hemoglobina

A—modelo del operón que controla la síntesis de la hemoglobina; B—hipótesis sobre la naturaleza genética de la conservación de la hemoglobina Hb^F en el adulto

POLILOCUCIDAD EN LA ORGANIZACIÓN DE LOS CROMOSOMAS EN LOS ORGANISMOS SUPERIORES. Las mediciones del contenido de DNA en dotaciones cromosómicas de diferentes especies pusieron al descubierto desviaciones notables en algunas formas que no correspondían al estado evolutivo de las especies. El volumen total de DNA, comenzando por los virus, crece a medida en que los organismos se hacen más complejos. Sin embargo, paralelamente este proceso hay saltos bruscos tanto en las formas cercanas como en las distantes. El contenido de DNA de una dotación cromosómica haploide (en 10^{-9} mg) es el siguiente:

Bacterias, hongos insectos		Anfibios		Aves	
Colibacilo	0,004	*Amphiuma*	84,0	Gallina	1,26
Neurospora	0,020	*Proteus*	24,2	Pato	1,30
Aspergillus	0,043	Rana	7,5	Ganso	1,46
Drosophila	0,085	Sapo	3,6		

Peces		Reptiles		Mamíferos	
Carpa	1,64	*Chelydra*	2,50	Vaca	2,82
Sábalo americano	0,91	Cocodrilo	2,50	Rata	3,40
Dipnoos	50,0	Culebra	2,51	Perro	2,75
		Coluber	1,48	Ratón	3,0
		costrictor		Hombre	3,25

Vemos que el contenido de DNA en el hongo *Aspergillus* es 10 veces superior que en las bacterias *E. coli*, en la carpa 500 veces y en el hombre 1000 veces. Sin embargo, en este cuadro de aumento evolutivo de la cantidad de DNA vemos que los peces dipnoos tienen, comparativamente con la *E. coli* 12 000 véces más DNA, y que *Amphiuma*, 22 000 veces. Esto demuestra que la cantidad de DNA no refleja la posición evolutiva del organismo. Evidentemente la cantidad de genes en *Amphiuma* no puede ser 22 veces mayor que en el hombre. El análisis de esta cuestión estableció que, por lo visto, este fenómeno está relacionado con las repeticiones de genes dentro del genoma.

En las condiciones de las células procariotas, la repetición de las secuencias nucleotídicas debe eliminarse por selección. La renaturalización de algunas cadenas en una molécula doble de DNA demuestra que la longitud mínima del sector «reconocedor» es igual aproximadamente a 12 nucleótidos. Si surgieran las repeticiones sólo de 12 nucleótidos o más ellos provocarían el entrecruzamiento dentro de la molécula anular de DNA y provocarían con esto la inestabilidad genética.

En las condiciones de la organización de los cromosomas en las eucariotas, las repeticiones no juegan este papel y son permisibles. Un análisis directo de la renaturalización del DNA en cromosomas de ratones demostró la existencia de repeticiones.

F. M. Ritossa y sus coautores, investigando diferentes líneas de *Drosophila* demostraron que las moléculas del RNA ribosómico se transcriben aproximadamente de 130 genes que son repeticiones de una misma secuencia nucleotídica. Ellos demostraron que el locus *bobbed*, localizado en el cromosoma *X*, el cual tiene un alelo en el cromosoma *Y*, es una acumulación de repeticiones que codifican la transcripción de las moléculas del RNA*r*. Se demostró que la cantidad de repeticiones de los genes para la transcripción de las moléculas de RNA*r* en el genoma de la gallina es igual a 100 y en la *Xenopus* es de 1000.

El estudio de los híbridos de dos especies de guirónomo (*Chironomus*) demostró que algunos discos de cromosomas politénicos por el contenido de DNA en la especie *C. th. thummi* se diferencian de los discos análogos en *C. th. piger* en 2, 4, 8 y 16 veces. Esto demuestra la cuantificación en la duplicación de la cadena de DNA cuando aparecen las repeticiones.

R. Y. Britten y D. E. Kohne (1968) fragmentaron una cadena simple de DNA de células de diferentes especies en segmentos con

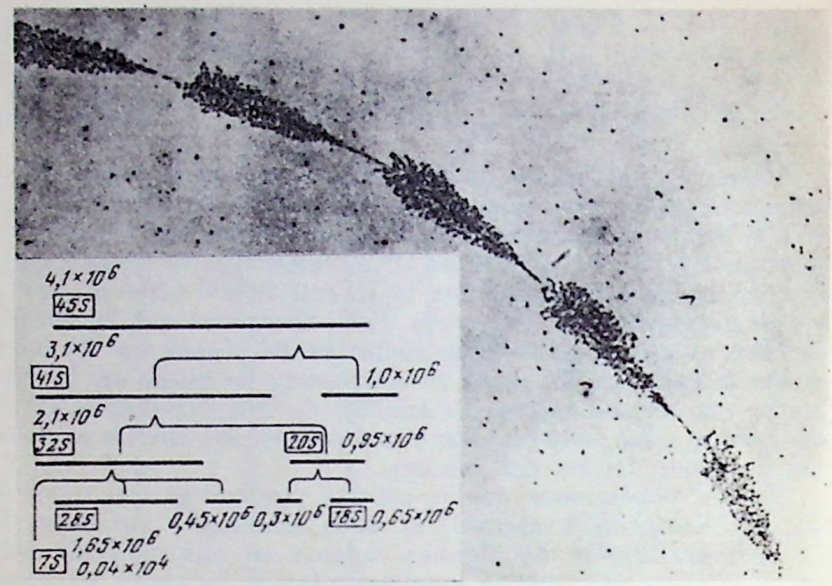


Fig. 195. Microfotografía electrónica de repeticiones en tandem del gene que codifica las moléculas de RNAr con la constante de sedimentación igual a 45*S* en las células de *Triturus viridescens*

Abajo a la izquierda se muestra de qué manera la degradación de la molécula precursora 45*S* da comienzo a las moléculas funcionales 28*S* y 18*S*

una longitud de cerca de 400 nucleótidos y estudiaron la reasociación de fragmentos monocadenarios en moléculas de dos cadenas. La velocidad de formación de los fragmentos de dos cadenas dependió del grado de homlogía de los fragmentos. Se analizaron genomas de más de 50 especies de organismos, desde los protozoos hasta los primates y plantas superiores. En cada uno de los genomas estudiados se encontró una gran cantidad de repeticiones de las secuencias nucleotídicas del DNA. En un 10% de DNA del ratón había 10^6 copias, en un 20% había de 10^3 a 10^5, y un 70% el DNA lo formaban loci singulares.

Fue demostrado que las repeticiones se localizan en la heterocromatina cerca del centrómero. Frecuentemente todas las copias de un tipo se encuentran situadas cerca y formando lazos (cromosomas de cepillos de lámpara) o *puffs* (cromosomas politénicos de los dípteros) y funcionan simultáneamente.

Para uno de los genes de las eucariotas está demostrado el fenómeno de las repeticiones en *tandem* (a lo largo). Esto se refiere al gene que codifica las moléculas de RNA ribosómico. En diferentes formas pueden haber por lo menos entre 100 y 1000 repeticiones. En la fig. 195 se muestra una microfotografía electrónica

de la serie de repeticiones enlazadas en forma de *tandem* y que codifican las moléculas de RNA*r* en el tritón. Cada repetición de dos genes tiene un peso molecular de 8×10^8. El gene transcribe la molécula de RNA*r* con un peso molecular de 4×10^8 con una constante de sedimentación igual a 45*s*. En la fig. 195 se muestra que la molécula 45*s* sirve de precursor de las moléculas de RNA con constantes de sedimentación de 28 y 18*s* que son propias de todos los ribosomas en las células eucariotas.

Fueron encontrados casos de copiar el DNA en moléculas de RNA mensajeros extremadamente largas. Así, la molécula de RNA*m* para la codificación de la cadena de hemoglobina es igual a 9*s*, teniendo un peso molecular de 17 000. Al mismo tiempo, ella se forma de moléculas primarias, gigantescas en su longitud que son los precursores del RNA*t*. Esta molécula se copia a partir de un trozo grande de DNA, ocupado por genes enlazados en repeticiones *tandem*. Después de formada la molécula gigante de RNA*m*, ésta se corta por medio de las nucleasas en moléculas individuales de RNA*m* de trabajo.

Teniendo en cuenta los hechos mencionados, H. G. Callan en 1967 formuló la hipótesis sobre la organización de los genes en el cromosoma de las formas superiores. De acuerdo con esta hipótesis cada cistrón se repite varias veces, al mismo tiempo estos sectores de repetición se encuentran ubicados en sucesión a lo largo del cromosoma (de una molécula de DNA). La diferencia en la cantidad de repeticiones explica sencillamente por qué las especies cercanas pueden distinguirse tan marcadamente por la cantidad de DNA.

H. G. Keyl indicó el posible mecanismo del surgimiento de las repeticiones siguientes linealmente una detrás de otra en el momento de la duplicación del DNA. Cuando se duplican los replicones que entran en la composición de los cromosomas, cada uno de ellos aparece representado en número único en los dos cromosomas hijos. La posibilidad de duplicación anormal es posible cuando uno de los replicones duplicados entra en un filamento hijo (duplicación) y el otro filamento lo pierde (deleción). En la fig. 196 se muestra el caso de duplicación en el replicón intermedio de los tres mostrados (fig. 196, *a*). Como resultado del error de duplicación el replicón intermedio se presenta doble (fig. 196, *b*), es decir que dentro de dicho replicón aparece una repetición que extiende sus dimensiones en dos veces (fig. 196, *c*). Sin embargo, por cuanto cada uno de los genes así repetidos bajo la acción del proceso de mutación espontánea puede mutar independientemente, entonces es evidente que en el caso de un funcionamiento simultáneo de las copias puede provocarse un alelismo prácticamente ilimitado en los tejidos de un organismo multicelular, lo que en realidad no existe. Esta contradicción se resolvió al suponer que en las series de genes que se repiten, uno de ellos juega un papel director y los demás un rol subordinado.

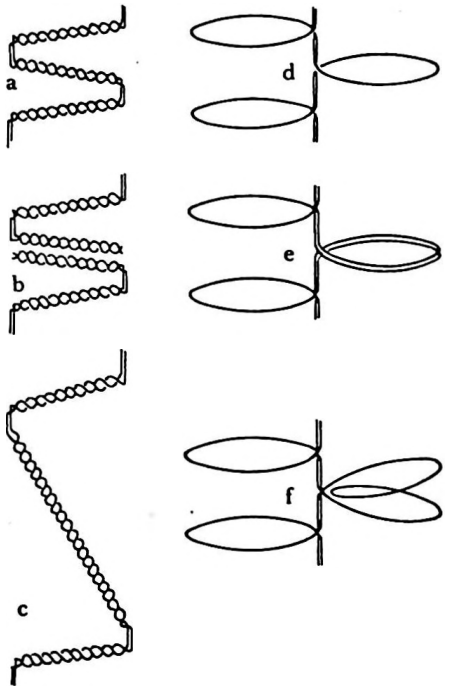


Fig. 196. Duplicación local de la cantidad de DNA en el replicón

a—los tres replicones iniciales; *b*—el DNA duplicado en el replicón central; *c*—cuadro general del fragmento del cromosoma en la duplicación del DNA en el replicón central (según N. G. Keyl)

El gene rector responde por la transmisión de la informacion a través de generaciones de organismos vivientes y por el mantenimiento de la identidad de la información en las copias a él subordinadas. La serie de secuencias subordinadas es una parte funcional del gene, que responde por la síntesis del RNA*m*. Según J. Whitehouse (1967), todas las veces antes de comenzar el proceso de transcripción, tiene lugar una corrección de la secuencia nucleotídica de las copias subordinadas por medio del apareamiento con la rectora. El mecanismo de apareamiento, según Whitehouse, incluye una conjugación temporal de una de las cadenas de la copia rectora con la cadena complementaria de la subordinada. Esta unión permite encontrar variaciones tan sutiles como la transición, que en un principio no puede ser identificada por el simple sistema de la reparación en oscuridad, por cuanto apenas ocurrida la sustitución de un par de las bases, entonces la estructura secundaria del DNA, por lo visto, no se altera. Después reconocido el deterioro por las enzimas correspondientes, éste debe ser eliminado por insición y la síntesis complementaria según la matriz de la copia rectora. Es posible suponer que de un modo análogo tiene lugar el control de la segunda cadena complementa-

ria de la copia subordinada según la matriz correlativa.

Durante la meiosis las copias subordinadas forman cromómeros que se separan del gene principal por medio del entrecruzamiento intracromatídico, según la conjetura propuesta por Whitehouse, y de esta manera de acuerdo con lo conocido en los trabajos clásicos de Genética, la polaridad lineal del gene no se detecta. Después de terminado el entrecruzamiento, los cromómeros se unen a la copia rectora por un método análogo llevándose a cabo nuevamente la corrección. Este modelo de organización de los genes en los cromosomas de los organismos superiores fue recibido con gran interés. Los principios planteados en él fueron utilizados ya por Whitehouse para el análisis del mecanismo de formación de los anticuerpos y por J. Fincham en 1967 para los casos de los genes de alta mutabilidad.

Si el mecanismo de corrección tiene lugar como fue explicado anteriormente, entonces una de sus etapas es la síntesis complementaria del DNA. Esto, por lo visto, permite entender el efecto citogenético de los antimetabolitos que son inhibidores de la síntesis del DNA. Se sabe que estas sustancias no provocan variaciones potenciales de los cromosomas, ya que ellas no interactúan directamente con el DNA. B. A. Kihlman, en sus últimos trabajos, desarrolla la idea de que los antimetabolitos, suprimiendo la síntesis del DNA conllevan a la alteración de una de las etapas del proceso del tipo de reparación en oscuridad que tiene lugar permanentemente en las células de los organismos superiores. Sin embargo, este punto de vista probablemente no tiene en cuenta algunos aspectos interesantes revelados en los experimentos sobre la acción de los inhibidores de la síntesis del DNA en un cultivo de linfocitos de sangre periférica. J. Brewen (1967) demostró que la actividad citogenética del arabinosido de citosina en los linfocitos no estimulados por la fitohemoglutina es significativamente menor que después de estimulados. La estimulación por sí misma significa la inclusión de una serie de genes que responden por los procesos específicos y no específicos de la heterosíntesis, es decir que después de añadirlos al cultivo comienza la transcripción intensiva de la información genética. H. Whitehouse considera que la corrección de las copias subordinadas según la rectora precisamente precede el comienzo del funcionamiento del gene. Si se asocia esto al efecto aumentado de los inhibidores de la síntesis del DNA en el cultivo de los linfocitos al inicio del funcionamiento de los genes, entonces es posible suponer que los antimetabolitos reprimen precisamente la síntesis adicional del DNA, que tiene lugar en el proceso de corrección.

El descubrimiento de la no correspondencia de la cantidad de DNA con el volumen de diversidad de las proteínas, codificadas por el programa genético del organismo es muy importante para la comprensión de la organización genética de las moléculas de DNA. En este caso el término frecuentemente utilizado del exceso

de DNA no es acertado. La existencia del DNA no funcional es imposible, pues hubiera sido eliminado en los procesos de la evolución.

En realidad, junto con los genes estructurales, la organización genética del DNA incluye también una serie de aspectos en sus funciones necesarias para la supervivencia de los organismos. Entre ellos están las repeticiones en los genes de poliloci, repeticiones de genes en diferentes tejidos y órganos, el cambio de los efectos de los genes en el desarrollo individual y otros.

Preguntas para discutir

16-1. ¿Qué experimentos permitieron descubrir que las moléculas de DNA son la base material del gene?

16-2. ¿Cómo se obtienen las partículas híbridas sintéticas de los virus que combinan las proteínas y el RNA de diferentes cepas, y qué se obtuvo de ellas para la mejor comprensión de las bases materiales de la herencia?

16-3. ¿Cómo se obtienen las moléculas híbridas de DNA y RNA?

16-4. ¿En qué consistían los experimentos que sirvieron para la creación de la teoría de centros del gene? ¿Qué nuevos principios introdujo esta teoría en el estudio del gene?

16-5. ¿Qué principios nuevos proporcionó el descubrimiento del fenómeno del pseudoalelismo?

16-6. ¿Qué es la complementación de los alelos?

16-7. ¿Qué elementos intragénicos recibieron el nombre de sites?

16-8. ¿En qué objeto fue descubierto por primera vez la textura molecular del gene? ¿Cómo se logró esto? ¿En qué consiste la esencia de la teoría sobre la naturaleza molecular?

16-9. ¿Qué elementos del gene recibieron el nombre de mutón, recón y codón?

16-10. ¿En qué consisten los principios del estudio del código genético, qué constituye la base del registro de la información genética?

16-11. ¿Qué razones existen para suponer que el codón consta de no menos de tres nucleótidos?

16-12. ¿Qué observaciones condujeron a admitir la existencia de un RNA mensajero especial?

16-13. ¿Cuáles son los principios de la transcripción del código del gene a las moléculas de RNA*m*?

16-14. ¿Qué es la transmisión de la información genética?

16-15. ¿Cuáles son las condiciones fundamentales, necesarias para la síntesis de la proteína en la célula?

16-16. Describa el esquema del mecanismo de la síntesis genéticamente regulada de las proteínas en los ribosomas?

16-17. ¿Qué experimentos demostraron la existencia real de codones en forma de tripletes nucleotídicos?

16-18. ¿Qué es la degeneración y el recubrimiento del código genético?

16-19. ¿Cómo transcurre el proceso de transcripción del gene?

16-20. ¿Qué es el fenómeno de colinealidad?

16-21. ¿Qué genes recibieron el nombre de estructurales?

16-22. ¿Qué son las enzimas constitutivas e inducidas en la célula?

16-23. ¿Qué es el fenómeno de la regulación de la acción de los genes? Descríbalo con el ejemplo de la serie de mutaciones en el locus de la lactosa.

16-24. ¿En qué consiste la función del gene operador y del gene regulador?

16-25. ¿Por qué la acción del supresor dominante (*Ds*) en el maíz se puede comparar con la del gene regulador en las bacterias?

16-26. ¿Cómo se lleva a cabo la transcripción de la información genética del operón?

16-27. ¿Cuáles son las particularidades de las agrupaciones de genes según sus caracteres fundamentales en los cromosomas de las procariotas?

16-28. ¿En qué consiste el efecto de posición de los genes y su importancia principal para la comprensión de la organización del cromosoma?

16-29. ¿Qué cuestión nueva introdujo la teoría de los operones en la investigación del efecto de posición?

16-30. ¿Qué ocurrió para que se reconociera la inactivación de una parte de los cromosomas sexuales en las células somáticas de los mamíferos?

16-31. ¿Cuáles son los principios de la regulación genética en la acción de los genes que determinan la aparición de hemoglobina humana Hb^A, Hb^S, Hb^{A_2} y Hb^F?

16-32. ¿Qué factores coadyuvaron a crear la hipótesis sobre las repeticiones de genes en el locus? ¿Qué cosa es el gene principal y qué se entiende por corrección de los genes?

16-33. ¿Cuál es el papel del promotor para los procesos de transcripción?

16-34. ¿Qué son los tripletes terminales y cuál es su función en los procesos de transcripción?

16-35. ¿A qué estructura en la molécula de RNA pertenece la iniciación de la transmisión?

16-36. ¿Entran el cromosoma y el episoma *F* de las bacterias en la unidad de la segregación?

16-37. ¿Qué cantidad de replicones le es característico al cromosoma humano medio, de acuerdo con sus dimensiones?

XVII Teoría de las mutaciones. Mutagénesis espontánea

El fenómeno de la herencia se basa en la capacidad de los genes de autorreproducirse con exactitud, lo que garantiza en las generaciones de los organismos vivientes la presencia de la base material de la información genética y como resultado de esto la reproducción de formas similares del metabolismo, con la particularidad de que, el material para la síntesis de los genes se obtiene desde el exterior, en última instancia del alimento. Al estar en dependencia del medio externo y de los antecesores que se sintetizan en la célula, los genes también cambian como todo en el mundo. Estos cambios recibieron el nombre de mutaciones. Las mutaciones, siendo nuevos estados moleculares de los genes, poseen la misma estabilidad que los genes de los cuales proceden. Mediante la autorreproducción, las mutaciones se transmiten a los descendientes en una cadena infinita de generaciones celulares. Las causas de la aparición de las mutaciones pueden tener sus raíces en las condiciones naturales del medio ambiente y en las particularidades del metabolismo. Las mutaciones, surgidas, por estas causas, recibieron el nombre de naturales o espontáneas. En el tiempo de hoy se han descubierto muchos factores, con ayuda de los cuales las mutaciones pueden ser provocadas artificialmente. La acción de diferentes tipos de radiación, los mutágenos químicos, etc., representan un potente mutágeno. Las mutaciones obtenidas bajo la influencia de estos factores se denominan inducidas.

CLASIFICACIÓN DE LAS MUTACIONES. Los principales tipos de mutaciones son: las mutaciones puntuales (de punto o intragénicas), los cambios estructurales de los cromosomas y las variaciones en el número cromosómico.

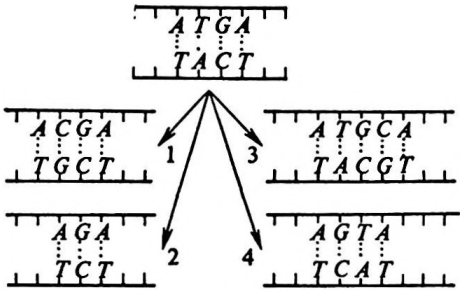


Fig. 197. Cuatro tipos de alteraciones mutacionales intragénicas locales

Explicación en el texto

Las mutaciones puntuales conciernen a nucleótidos dentro del gene. El lugar de la mutación en cualquier punto del gene se denomina site. Mediante el entrecruzamiento intragénico, distintos sites pueden ligarse en el mismo gene o separarse. La esencia de estos cambios intragénicos locales se reduce a cuatro tipos: 1) la sustitución de pares de bases de la molécula de DNA; por ejemplo, si las bases iniciales en un sector dado del gene tenían el aspecto: *AT*, *AT*, *GC*, *AT*, entonces mediante la mutación, ellas pueden adquirir la forma: *AT*, *CG*, *GC*, *AT*; 2) la deleción de un par o un grupo de bases. Para el ejemplo expuesto esta mutación puede tener el aspecto: *AT*, *GC*, *AT*, o *AT*, *AT*, etc.; 3) la inserción de un par o un grupo de pares de bases. Para el ejemplo escogido este tipo de mutaciones puede manifestarse en forma de: *AT*, *AT*, *GC*, *GC*, *AT* o *AT*, *AT*, *GC*, *AT*, *AT*. 4) Reordenamiento en la posición de los nucleótidos dentro del gene (fig. 197).

Los cambios en la estructura molecular del gene conllevan a nuevas formas de copiar a partir de éste la información genética necesaria para que transcurran los procesos bioquímicos celulares y al fin de cuentas conducen a la aparición de nuevas propiedades en la célula y en el organismo en general. Las diferencias que existen entre los mutantes y las formas iniciales pueden concernir a cualquier propiedad, tanto a las que se manifiestan externamente (fig. 198) mediante los cambios en la morfología, la pigmentación, la conducta, etc., como cualquier alteración interna referente a la fisiología y a la bioquímica del organismo. En *Drosophila* se han obtenido cientos de mutaciones que cambian los caracteres del cuerpo, los ojos, las alas, las extremidades, etc., varían la fertilidad. la longevidad, particularidades inmunogenéticas, el comportamiento sexual, distintas reacciones ante los factores del medio ambiente (luz, gravedad, etc.) mutaciones de la resistencia a los insecticidas y otros venenos, etc., varían las particularidades bioquímicas del organismo, y las mutaciones provocan el fenómeno de la homeosis. En el último caso, por ejemplo, las antenas de

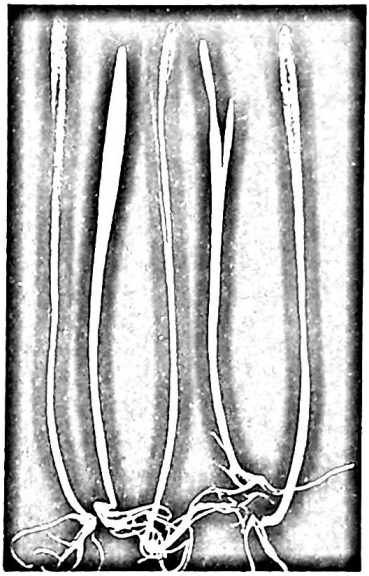


Fig. 198. Mutación del albinismo en el arroz

Drosophila se convierten en patas, los halterios en el segundo par de alas, etc. Los mutantes de las bacterias pueden perder la virulencia, adquirir una resistencia a los antibióticos o los venenos, cambiar la morfología de las colonias, adquirir las más variadas desviaciones bioquímicas, etc.

Se han descubierto una inmensa cantidad de mutaciones en el ser humano que se refieren a su morfología, bioquímica, inclinaciones en la conducta, capacidad mental, algunas formas especiales del talento (don musical), etc. Es obvio que las mutaciones atañen a cualquier aspecto bioquímico, de la estructura y la fisiología de la célula. El fundamento de todos estos fenómenos es el cambio en las bases materiales de la información genética. Las mutaciones varían los elementos de esta información, por eso cualquier manifestación de vida puede ser alterado bajo la acción de las mutaciones. Precisamente esta propiedad hace de las mutaciones el material inicial para la evolución y la selección. Las mutaciones de los genes por su acción sobre el organismo y la célula se someten a la clasificación muy aproximada, ya que los límites entre diferentes propiedades son sumamente convencionales. Se destaca la categoría de las llamadas mutaciones visibles, o sea, las mutaciones que alteran las propiedades morfológicas o fisiológicas apreciables de los organismos. En *Drosophila*, la primera mutación descubierta en 1909 fue la de los ojos blancos.

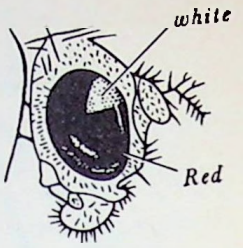


Fig. 199. Mutación somática en *Drosophila* (sector de color blanco en el ojo rojo)

En este caso, el gene de color rojo normal dominante se convirtió en alelo recesivo que perdió la propiedad de elaborar el pigmento del ojo.

La segunda categoría importante son las mutaciones bioquímicas, las cuales alteran el curso de las biosíntesis en las células. A la tercera categoría pertenecen las mutaciones que alteran la viabilidad de los individuos, o sea las llamadas letales, semiletales y subletales. Las mutaciones letales determinan la muerte del cigoto en una u otra fase de su desarrollo. Las mutaciones semiletales y subletales, en distinta medida, debilitan la viabilidad del organismo o la célula. Después de los trabajos de H. De Vries, se consideró cierto tiempo que las mutaciones estaban relacionadas preferentemente con los grandes cambios en el desarrollo del individuo. En realidad, resultó que existe toda una gama de transiciones desde los cambios bruscos hasta las llamadas mutaciones pequeñas. Esta última categoría resultó ser particularmente amplia siendo el fundamento para la flexibilidad evolutiva en la manifestación de muchas mutaciones grandes.

Una peculiaridad esencial de las mutaciones es el hecho de que, como regla, cualquier cambio mutacional, a pesar de que influya sobre cierta particularidad bien manifestada del organismo, tiene, además, una serie de aspectos que cambian el complejo de caracteres. Este fenómeno ya ha descrito antes y se denomina pleiotropía. Por ejemplo, el gene *vg* (*vestigial*, áptero) influye no solamente sobre el desarrollo del ala. sino también sobre la fertilidad y las quetas de la mosca. En los ratones, la mutación del cuerpo amarillo influye en la viabilidad, el color del cuerpo, el grado de distribución de las manchas blancas, etc. Para caracterizar las mutaciones es importante saber la fase de desarrollo del individuo, en que ésta aparece. Cuando las mutaciones tienen lugar en las células embrionarias, las mismas se transmiten a los individuos de la generación siguiente. Sin embargo, las mutaciones pueden surgir en los tejidos somáticos en diferentes etapas del desarrollo individual. En este caso se trata de las mutaciones somáticas (figs. 199 y 200), que conllevan al surgimiento de la diversidad genotípica de los tejidos dentro del individuo y a

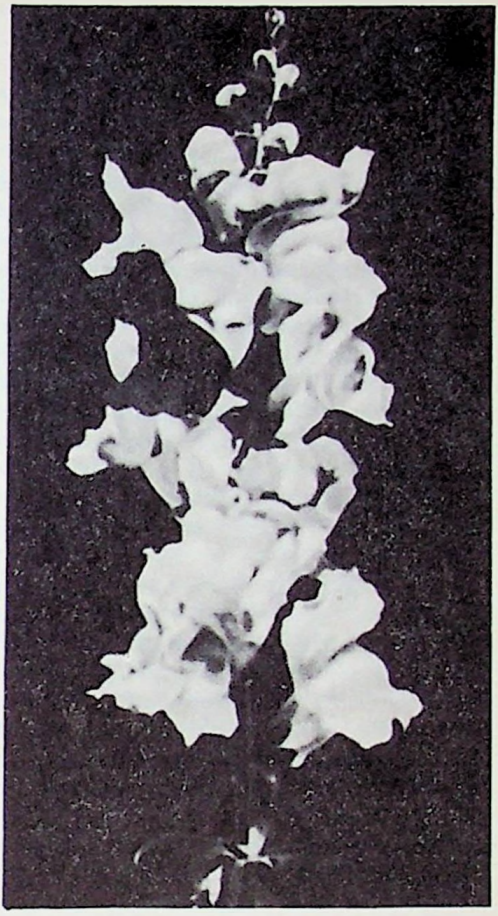


Fig. 200. Mutaciones de la coloración del pétalo en boca de dragón (pétalo rojo en inflorescencia blanca)

menudo no se transmiten por herencia. Sin embargo, estas mutaciones pueden ser utilizadas ampliamente en los organismos que se multiplican vegetativamente. Es decir, las mutaciones somáticas constituyen la base de la selección de los cultivos cítricos y de otros.

Es ampliamente admitida la división de las mutaciones en variaciones estructurales de los cromosomas y en mutaciones puntuales. La categoría de las mutaciones estructurales es bastante diversa. Esta comienza con grandes reestructuraciones de los cromosomas registrados perfectamente a través del microscopio, pasa por una serie de transiciones y termina con microaberraciones que no son detectadas microscópicamente.

Además, existen todas las transiciones desde las grandes mutaciones estructurales, pasando por las microaberraciones, hasta las alteraciones estructurales de los sites dentro del gene. Las deleciones, inserciones y reordenamientos de los nucleótidos dentro del gene son, en principio, mutaciones estructurales de los cromosomas. Sin embargo, siendo elementos de carácter intragénico, éstas se refieren a las mutaciones puntuales.

Uno de los conceptos fundamentales en la teoría de las mutaciones es la idea de las mutaciones directas e inversas. Por mutaciones directas se entienden los cambios hereditarios de los caracteres normales, propios de la mayoría de los representantes de una especie dada, en caracteres alelomorfos. Por ejemplo, los individuos normales de *Drosophila* tienen los ojos de color rojo. El desarrollo de este carácter está relacionado con la acción del alelo normal (+). Cuando surge la mutación recesiva de ojos blancos, hablamos de la mutación directa, es decir, de la transformación mutacional del alelo + en *w*. Sin embargo, el alelo *w* también sufre mutaciones y, en particular, puede convertirse en alelo inicial +, el cual garantiza el desarrollo del color rojo de los ojos. En este caso se trata de la mutación inversa o reversión mutacional.

En el análisis de las mutaciones inversas son posibles los errores relacionados con que el fenómeno puede disimularse con la aparición de los genes supresores. Por ejemplo, en las líneas de *Drosophila*, homosigóticas para el gene *vermillion* (*v*, ojos brillantes) fueron encontrados individuos con ordinarios ojos de color rojo oscuro. Parecía que presenciábamos un fenómeno de mutación inversa. Sin embargo, un análisis genético detallado demostró que en este caso, en el cultivo apareció un alelo en otro cromosoma el cual reprimió por completo la acción del gene *vermillion*. Tales genes supresores, sin manifestación fenotífica propia, son ahora ampliamente conocidos en la *Drosophila*, *Neurospora*, bacterias, así como en otros organismos.

El aspecto más importante en el proceso de las mutaciones es su inadecuación a las influencias de los factores del medio ambiente. Más adelante esto será demostrado en los experimentos con las bacterias. Las mutaciones tienen un valor inadaptativo, objetivamente casual. Esto no excluye la especificidad de la mutagénesis al influir los inductores específicos sobre el material genético.

MUTACIONES ESTRUCTURALES DE LOS CROMOSOMAS Las mutaciones estructurales de los cromosomas se manifiestan con la presencia de mutaciones inter e intracromosómicas. A estas últimas pertenecen: 1) deleción: pérdida de uno u otro segmento de los cromosomas, desde un gene hasta el bloque de genes de diferente magnitud. Si se designa el cromosoma inicial como una serie de loci: 12345678910, entonces el cromosoma con la deleción del locus 4 tendrá el

aspecto de 1235678910, el cromosoma con la deleción del segmento 6—9 será 1234510, etc.; 2) duplicación: adición de algunos genes o bloques de genes a la dotación básica. En nuestro ejemplo, esta adición al genotipo inicial puede representarse de la forma siguiente: 12345678910456, 3) inversión: rotación 180° del bloque de genes dentro de los cromosomas. En nuestro ejemplo, el cromosoma mutado con inversión obtendrá la forma: 12398765410. A las mutaciones intercromosómicas se refiere el fenómeno de las translocaciones, es decir, el intercambio de segmentos entre los cromosomas, lo que conlleva a la formación de dos nuevos cromosomas. De esta forma, si los cromosomas iniciales poseen las dotaciones de genes de la forma 123556 y 78910, entonces como resultado de la translocación recíproca surgirán cromosomas: 123910 y 55678. Actualmente todos estos tipos de mutaciones se han estudiado con detalle citológicamente. Para este fin, en la *Drosophila* se emplean cromosomas gigantes de los núcleos celulares de las glándulas salivales, en los cuales se ha mostrado la disposición exacta de muchos genes.

Las mutaciones del número de cromosomas se distinguen también con la presencia de varios tipos: 1) poliploidía: cuando en el núcleo tiene lugar el aumento de la cantidad de genomas; las formas poliploides pueden ser: triploides ($3n$), tetraploides ($4n$), pentaploides ($5n$), etc. En el caso, cuando la multiplicación se concierne a la dotación de la misma especie, entonces, se trata de la autopoliploidía. En caso de duplicación del número de cromosomas en los híbridos, obtenidos del cruzamiento de diferentes especies nos encontraremos ante la alopoliploidía; 2) haploidía: cuando cada cromosoma está representando en la dotación simple; 3) aneuploidía: cambio del número de cromosomas por razones de adición o pérdida de algunos cromosomas que a su vez puede ser representada por tres tipos fundamentales de cambios: a) monosomía, cuando se pierde un cromosoma de la dotación, para los diploides esto será $2n-1$, para los tetraploides $4n-1$, etc.; b) polisomía: mediante la adición de uno de cromosomas en la dotación: en los diploides $2n+1$; para los tetroploides $4n+1$, etc.; c) nulisomía: mediante la pérdida de ambos homólogos de un par de cromosomas ($2n-2$, $4n-4$, etc).

DELECIONES Un caso clásico de deleciones es el ejemplo con la mutación *Notch* en *Drosophila*. Esta fue descubierta por C. B. Bridges en 1917 e investigado detalladamente por Mohr en 1923. La mutación se manifiesta con pequeñas escotaduras en las alas de la mosca (fig. 201). La mutación se hereda ligada al sexo, estando localizada en el extremo izquierdo del cromosoma *X*. Al presentarse en los machos, ésta los mata, o sea, es letal en estado homocigótico. El análisis genético demostró también que para la mutación *Notch* es característico el fenómeno de la seudodominancia. Este último consiste

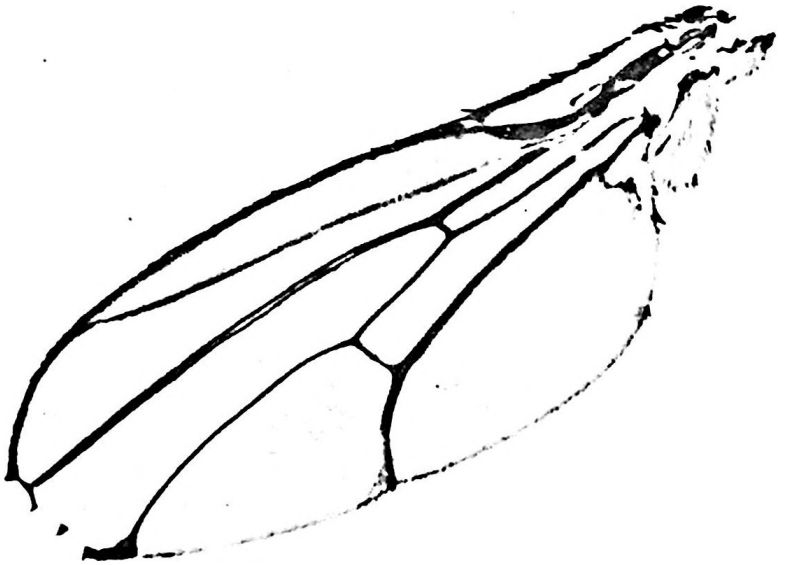


Fig. 201. Ala de *Drosophila*, heterocigótica para el gene dominante *Notch*, el cual produce escotaduras en el borde del ala

en que en los heterocigotos para esta deficiencia se manifiestan alelos recesivos de una serie de genes, localizados en el cromosoma homólogo contra la deficiencia. En la fig. 202 se muestra que al cruzar una hembra, heterocigótica para la mutación *Notch*, todas sus hijas con esta mutación presentarán caracteres de ojos blancos, aunque el gene de este carácter es recesivo, lo que corresponde a un grupo entero de genes en esta región. Estos datos demostraron que la aparición de la mutación *Notch* está relacionada con la pérdida de un grupo entero de alelos normales. Finalmente, en los experimentos genéticos se estableció que la mutación *Notch* redujo el tamaño del cromosoma. En su segmento no tiene lugar el entrecruzamiento, lo que disminuyó el mapa genético en 3,8 unidades. Todo esto sirvió de base para la teoría sobre las deficiencias en los cromosomas.

En el presente, después del descubrimiento del significado genético de los cromosomas gigantes de las células de las glándulas salivales en *Drosophila* fueron estudiadas las deleciones en los cromosomas de estas moscas que presentaban la mutación *Notch*. Esta mutación verdaderamente resultó ser una deficiencia del segmento en el extremo izquierdo del cromosoma *X* (fig. 203). Utilizando las deficiencias de diferente longitud fue posible localizar genes en algunos discos de los cromosomas gigantes

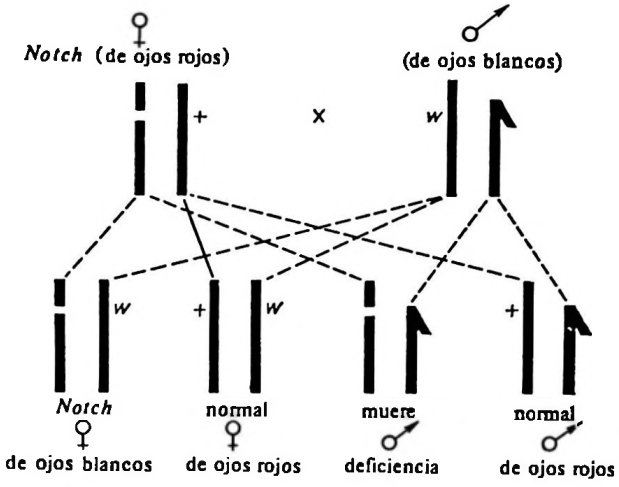


Fig. 202. Herencia de la mutación *Notch* y fenómeno de la seudodominancia

(fig. 204). Por esta vía se demostró que en determinados discos hay un grupo de genes estrechamente enlazados. En total hay 5 149 discos en todos los cromosomas de *Drosophila*. Si acordamos que en cada una hay sólo dos genes, entonces el número total de genes en *Drosophila* será alrededor de 10,000 (1×10^4).

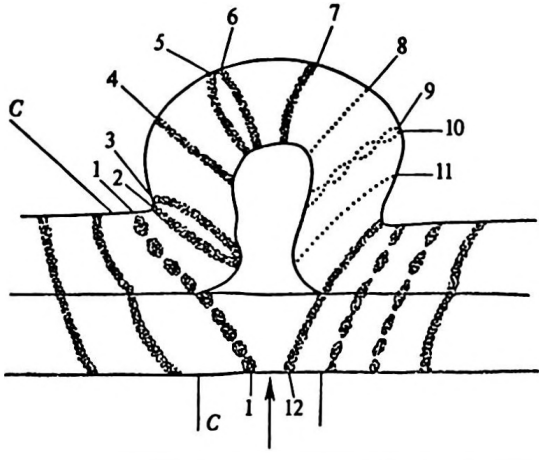


Fig. 203. Deficiencia en un segmento de uno de los homólogos del cromosoma *X* de *Drosophila* que produce la mutación *Notch*

El cromosoma normal está representada en esta región en forma de asa. La deficiencia *Notch* abarcó una región desde *C*2 hasta *C*11 inclusive (según mapa de Bridges)

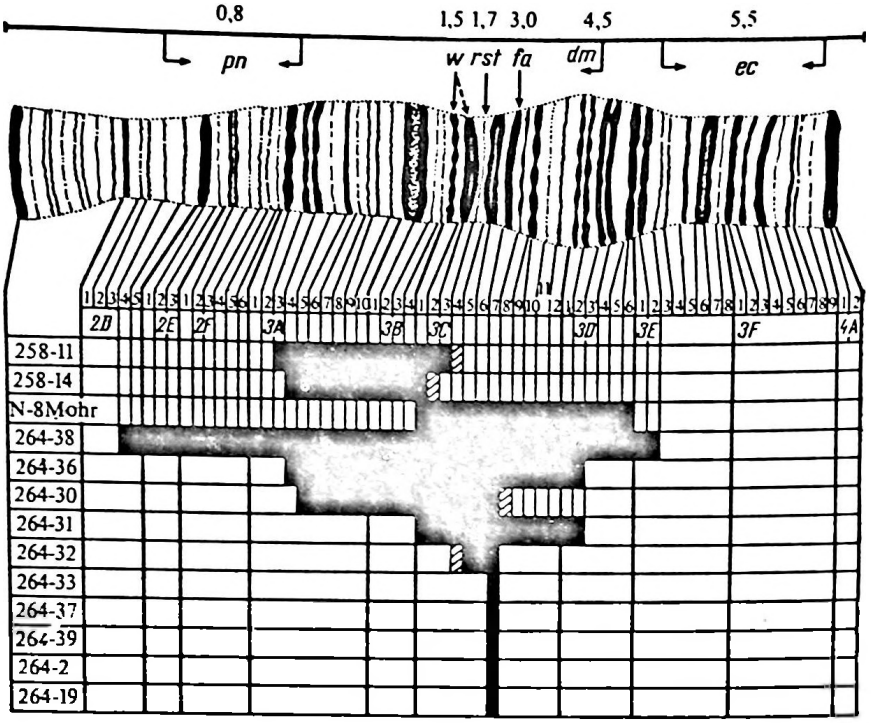


Fig. 204. Mapa citológico y genético de uno de los segmentos del extremo izquierdo del cromosoma *X* de *Drosophila melanogaster*

En negro están señaladas las diferentes deficiencias con ayuda de las cuales fueron localizados los genes en los discos del cromosoma

Las deficiencias de dimensiones relativamente pequeñas se transmiten a través de los heterocigotos, siendo, por regla general, letales en estado homocigótico. M. Demerec demostró, que aunque las células homocigóticas con respecto a las deficiencias en *Drosophila* aparecen en el grupo de células somáticas, rodeadas de tejidos normales, éstas de todas maneras mueren. Tal efecto de deficiencias es, sin embargo, propio sólo de los organismos rigurosamente diploides. En el caso de los poliploides, las deficiencias se compensan con genomas adicionales. Así, por ejemplo, en el trigo blando, proveniente de tres especies diferentes y que es alopoliploide trigenómico, sobreviven incluso aquellas plantas en que faltan pares enteros de cromosomas. Este análisis con ayuda de organismos nulisómicos representa en los días de hoy un importante instrumento en las investigaciones de la genética del trigo.

DUPLICACIONES. El fenómeno de las duplicaciones fue descubierto genéticamente en los estudios con *Drosophila*. En 1919, en uno de sus experimentos, Bridges encontró que los individuos, homocigóticos para determinados alelos recesivos, no manifiestan sus propiedades en el fenotipo. El análisis genético demostró la presencia de sus alelos normales en otro cromosoma. En este caso se trataba de la duplicación cuando el material genético, además de encontrarse en su lugar habitual en el cromosoma, resultó estar repetido en el otro. El análisis genético de la duplicación recibió plena confirmación citológica tanto en los cromosomas metafásicos ordinarios (fig. 205) como en los gigantes. Un minucioso examen de estos últimos demostró (Bridges, 1935) que en su estructura hay repeticiones, es decir, que existen bloques de genes duplicados en una dotación haploide. Estas repeticiones son fuente importante para la evolución de nuevos genes. En la duplicación de un gene dado, sólo un par de alelos es obligatoriamente necesario para la vida del individuo, y el otro queda «libre» en su evolución. Esta vía es importantísima para el aumento del volumen y la diversidad de las bases materiales de la información genética.

Una de las fuentes de aparición de repeticiones lineales en el cromosoma son los llamados entrecruzamientos desiguales. Un ejemplo clásico de entrecruzamiento desigual es el comportamiento del gene dominante *Bar* (ojos estrechos) en *Drosophila*, el cual representa la duplicación de una pequeña porción (16*A*) en el extremo derecho del cromosoma *X*. Gracias a la presencia de la duplicación lineal repetida en esta región son posibles la conjugación de las repeticiones izquierda y derecha en dos homólogos (fig. 206), lo que conlleva al entrecruzamiento desigual. Este fenómeno fue descubierto por Sturtevant en 1925. Un entrecruzamiento desigual, después de la conjugación de dos cromátidas con la inserción (*B*/*B*) conduce a la aparición de una cromátida

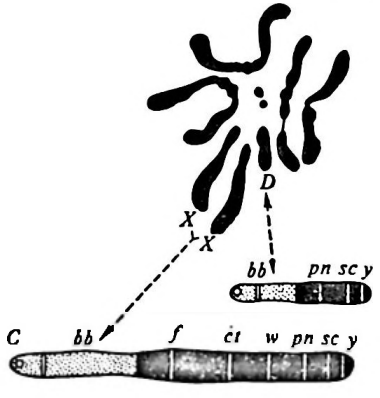


Fig. 205. Duplicación del segmento del cromosoma *X* en *Drosophila melanogaster*

La duplicación (*D*) contiene su centrómero independiente y por eso está representada en forma de cromosoma complementario extra (noveno). Abajo—el esquema de la estructura de la duplicación en el cromosoma *X*; lugares de localización de algunos genes; *C*—centrómero

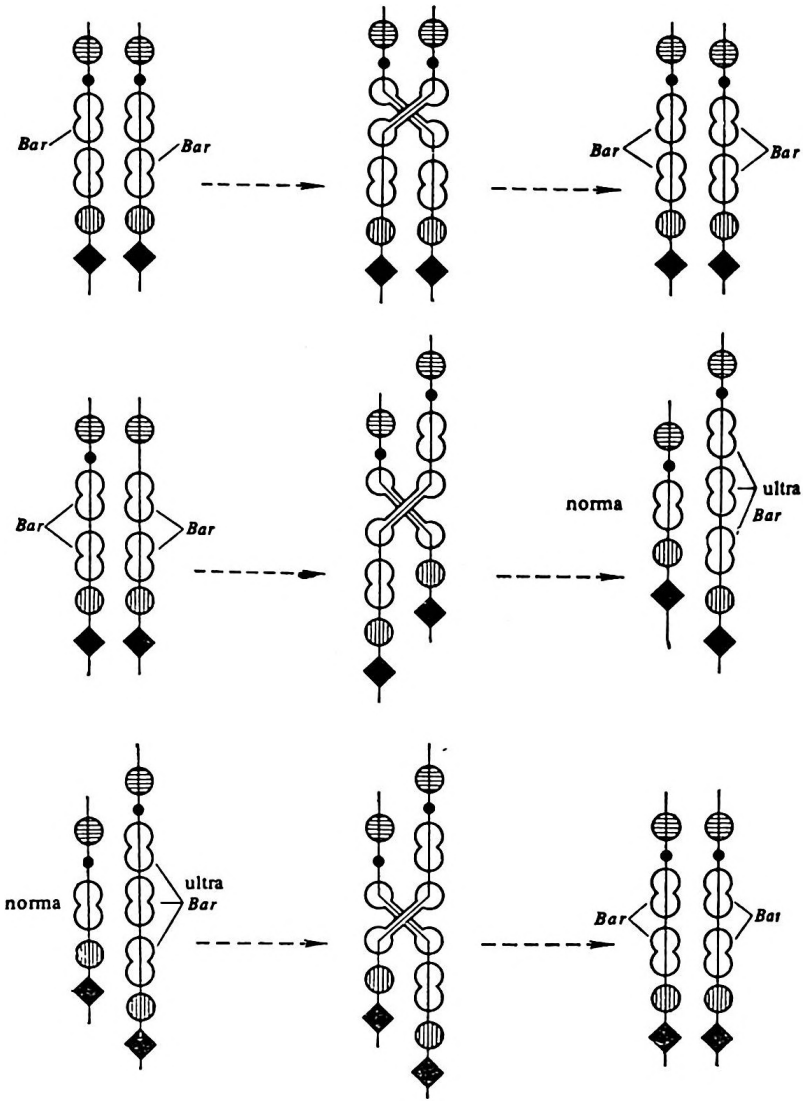


Fig. 206. Entrecruzamiento en la duplicación *Bar* en *Drosophila*

Fila superior, entrecruzamiento común en las hembras heterocigóticas para la duplicación *Bar*. Fila intermedia, entrecruzamiento desigual que conlleva a la aparición de individuos normales e individuos ultra *Bar*. Fila inferior, entrecruzamiento en el sistema +/ultra *Bar*, que conduce al surgimiento de dos cromosomas *Bar*

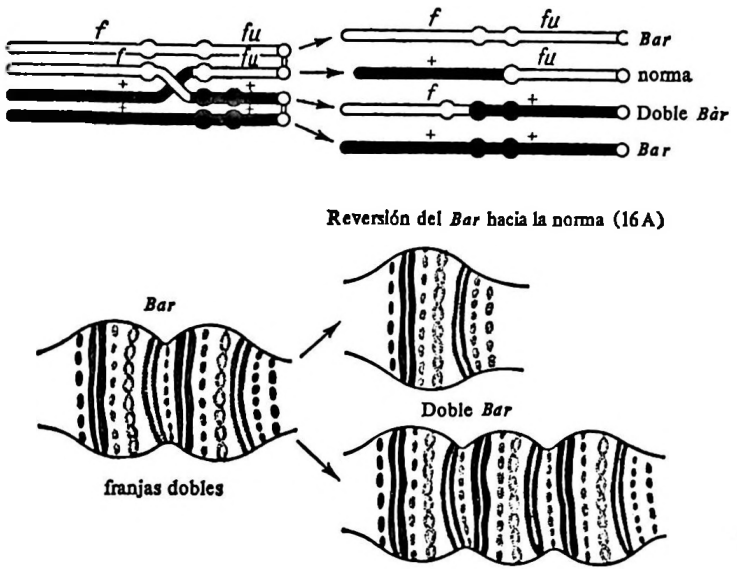


Fig. 207. Entrecruzamiento desigual en la duplicación *Bar*, registrado con ayuda del sistema de los genes de señales *f* y *fu*

Abajo, sección del cromosoma 16*A*, que forma parte de la duplicación (según M. White)

sin inserción, es decir, de reversión hacia el tipo normal de la estructura del ojo y en otra cromátida se presenta una doble duplicación. Esta última recibió el nombre de doble *Bar*. En estos casos el hecho de entrecruzamiento se registra con exactitud (fig. 207) gracias a la presencia de genes marcadores *fu* (*fused*—venas fusionadas en el ala) y *f* (*forked*—quetas furcadas). Mediante el entrecruzamiento desigual se puede producir en el cromosoma dos, tres y un número mayor de repeticiones *Bar*. Tras el aumento de la cantidad de repeticiones en el cromosoma aumenta el grado de alteración del desarrollo de los ojos de *Drosophila* (fig. 208). Además, se estableció que la disposición de la duplicación en el cromosoma influye sobre su efectividad en los procesos del desarrollo. Así, el *Bar* homocigótico, al tener 4 segmentos de 16*A* en dos cromosomas de a dos en cada uno, por término medio determina el desarrollo de 68 facetas en el ojo. Los heterocigotos para el doble *Bar* poseen los mismos cuatro segmentos, pero distribuidos en el cromosoma de otra forma. Aquí los tres segmentos se encuentran en un cromosoma y uno está en el segundo cromosoma homólogo normal. En tales individuos se presentan, en término medio, 45 facetas en cada ojo (fig. 208, *Bar* y heterocigotos para el doble *Bar*). Para describir ese fenómeno, Sturtevant propuso el

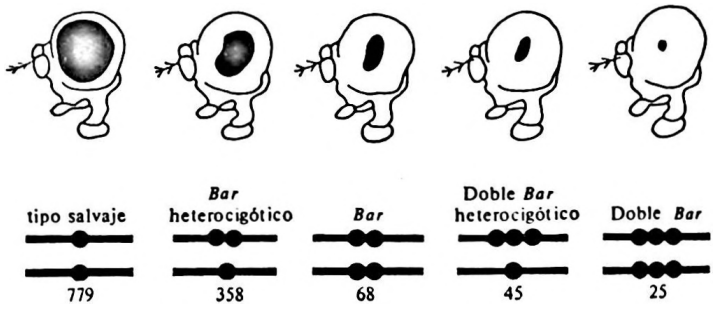


Fig. 208. Tamaño del ojo y cantidad media de facetas en *Drosophila* normal con diferentes genotipos *Bar*

término de efecto de la posición del gene. Este concepto reflejó la idea de que la acción del gene puede estar en dependencia de su vecindad intracromosómica.

TRANSLOCACIONES. En los fenómenos de las translocaciones no nos encontramos con alteraciones cuantitativas en la composición del genotipo lo que tuvo lugar en las deleciones y en las duplicaciones. En este caso surge el fenómeno del reordenamiento del material génico entre distintos cromosomas. Las translocaciones pueden ser simétricas (eucéntricas), cuando en los cromosomas después del intercambio de sus segmentos se conserva un centrómero en cada uno. Estas reestructuraciones de los cromosomas ocurren a través de la mitosis y la meiosis. Estas se transmiten a un número infinitivo de generaciones formando parte de aquellos ladrillos que se emplean ampliamente durante la evolución estructural de los cromosomas en el origen de las razas y especies.

En caso de translocación, dos cromosomas intercambian sus segmentos. Así, de los cromosomas iniciales: 123456 y 789101112, después de una translocación aparecen cromosomas: 123101112 y 789456. En la meiosis, gracias a la acción de las fuerzas de atracción homóloga, los genes iguales y sus bloques se conjuegan, lo que cambia al presentarse la aberración, la normal configuración filiforme de los homólogos conjugados. En la translocación simétrica aparece la figura en forma de cruz (fig. 209). Al transcurrir el entrecruzamiento en cada uno de los cuatro brazos aparecen quiasmas, los cuales al terminarse, conllevan a la aparición de la figura compuesta por cuatro cromosomas, unidos por las puntas en forma de anillo abierto retorcido (arrollado) (fig. 210). Si en uno de los brazos el quiasma no se forma, entonces aparece una cadena de cuatro cromosomas. Los cuadros citológicos de todas estas configuraciones fueron estudiados detalladamente

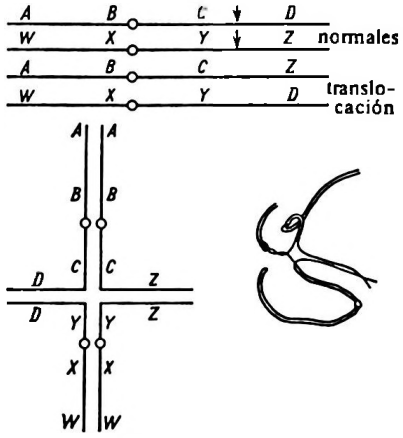


Fig. 209. Conjugación de un par de cromosomas en la heterocigosis por translocación

Arriba, translocación heterocigótica. Abajo a la izquierda, esquema de la conjugación en la heterocigosis por translocación, a la derecha, conjugación de tales cromosomas en la paquitena de la meiosis en el maíz (según B. McClintock)

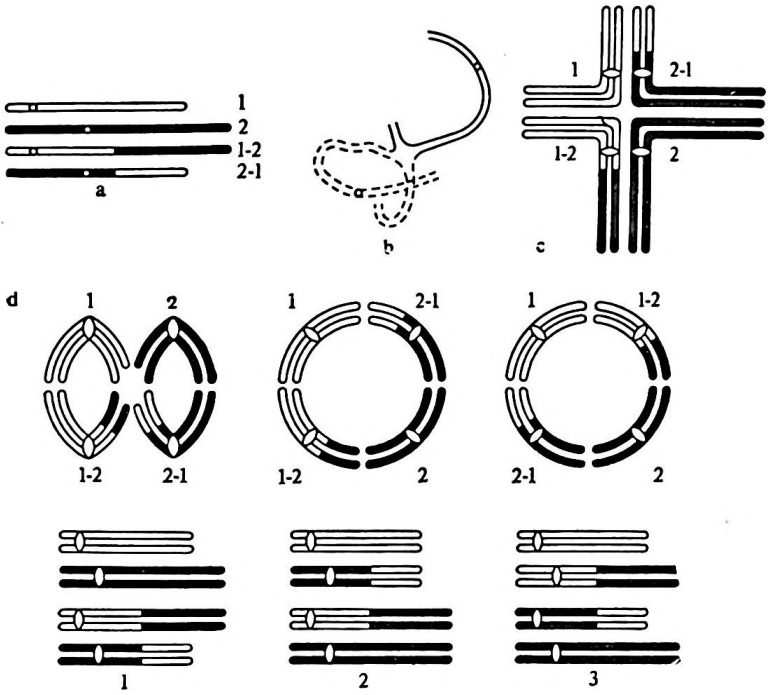


Fig. 210. Meiosis en la heterocigosis por translocación

a—cromosomas paternas iniciales, arriba (1,2)—cromosomas normales, abajo (1—2, 2—1)—translocación; *b*—cuadro microscópico en la paquitena del maíz, heterocigótico por translocación; *c*—esquema de la conjugación de los homólogos en la paquitena; *d*—tres formas de disposición de los homólogos en la metafase—alternativa, adyacente-1, adyacente-2; *e*—seis tipos de gametos, sólo dos tipos de gametos en la columna izquierda poseen dotación balanceada de genes los otros cuatro tienen duplicaciones o deficiencias de material genético

en la *Datura*, *Tradescantia* y otros organismos, heterocigóticos para las translocaciones.

La presencia de las distintas configuraciones señaladas de los cromosomas en la meiosis determina la posibilidad de la aparición de diferentes gametos en estos individuos. En el primer caso (fig. 210, *1*) los gametos portan dotación haploide normal o dotación con translocación. En el segundo caso (fig. 210, *2*), el gameto superior tiene duplicación para el cromosoma blanco y deleción para el negro, y el inferior posee deleción por el cromosoma negro y duplicación con respecto al cromosoma blanco. En la mayoría de las plantas el polen que contiene deleciones o duplicaciones de los segmentos de los cromosomas son inviables. Estos granos de polen son vacíos diferenciándose fácilmente de los granos normales. Los sacos embrionarios con estas alteraciones cromosómicas pueden abortar también. Por eso, los individuos heterocigóticos para translocaciones, manifiestan semiesterilidad.

Las células embrionarias de los animales no reaccionan con tanta precisión a la alteración del equilibrio de los cromosomas. En *Droso phila*, tanto los espermatozoides como los óvulos, transmiten las duplicaciones y las deleciones de los heterocigotos para las translocaciones. Sin embargo, los óvulos fecundados mueren en una u otra fase del desarrollo por la alteración del equilibrio en el material genético.

Las translocaciones pueden ser detectadas también por métodos netamente genéticos. Veamos el siguiente ejemplo, para las translocaciones en *Drosophila*. Mediante el cruce, representado en la fig. 211, en el F_1 obtenemos individuos heterocigóticos por translocaciones entre los segundo y tercer cromosomas, en los cuales el tercer cromosoma normal está marcado por el gene recesivo *bw* (*brown*—color pardo oscuro de los ojos), el segundo, por el gene recesivo *st* (*scarlet*—color escarlata de los ojos). Tales machos heterocigóticos se cruzan con las hembras *stst*, *bwbw*. Si tuviéramos un curso simple de heredamiento, entonces obtendríamos en este cruce cuatro categorías de descendientes: 25% de normales, 25% *st*, 25% *bw* y 25% *stbw*. Sin embargo, la presencia de la translocación cambia el curso de la herencia, ya que ella unió físicamente las partes del segundo y el tercer cromosomas. En vistas de que en los machos de *Drosophila* no existe entrecruzamiento, se puede esperar en este caso un total enlace entre los alelos normales de los genes *st* y *bw*, lo que se observa en la realidad. Si se tiene en cuenta solamente aquellos gametos de los machos que dan la descendencia viable, entonces ellos serán solamente de dos variedades: +, + y *st*, *bw* (véase fig. 211). Como resultado, la descendencia producto de este cruce, se divide no en cuatro categorías, sino en dos, como es habitual, solamente. El 50% de la descendencia tendrá ojos blancos por la interacción de los genes *st* y *bw*. El 50% restante estará representado por fenotipos normales. De esta manera, los alelos norma-

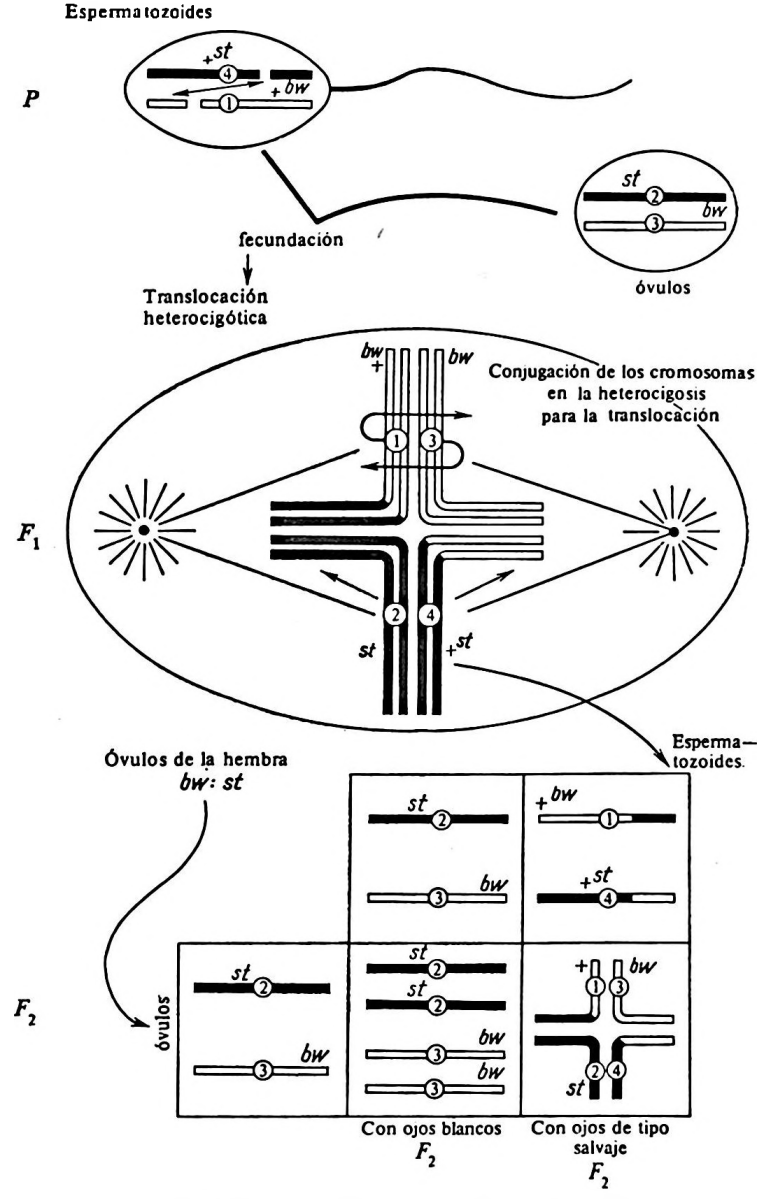


Fig. 211. Esquema de la herencia de los marcadores en la descendencia del individuo, heterocigótico por translocación

Cromosoma *2*—negro; cromosoma *3*—blanco; *1* y *4*—los mismos cromosomas que forman la translocación

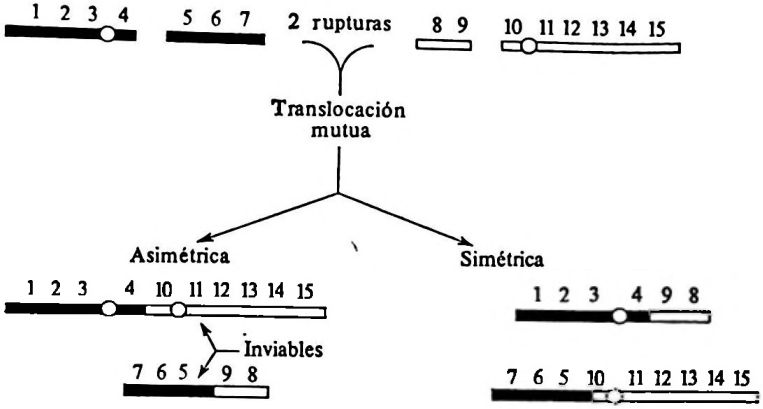


Fig. 212. Formación de la translocación acéntrica (abajo a la izquierda) y eucéntrica (abajo a la derecha)

les de los genes *st* y *bw*, que se encuentran regularmente en diferentes cromosomas, con la translocación estarán totalmente enlazados.

Las hembras de *Drosophila*, heterocigóticas para la translocación, no muestran un enlace completo de los genes translocados, ya que éstos en parte se dividen por el entrecruzamiento. Sin embargo, el entrecruzamiento en estos casos está inhibido.

Al mismo tiempo que las translocaciones eucéntricas, con las cuales el número de centrómeros para cada cromosoma sigue siendo de uno, aparecen translocaciones acéntricas (fig. 212). En el último caso se forman dicéntricos y fragmentos del cromosoma. En la misma primera mitosis después de su autorreproducción, los cromosomas duplicados y translocados debido a la separación de los centrómeros hacia los polos opuestos, forman dos puentes cruzados y algunos fragmentos separados. Los dicéntricos que forman los puentes se rompen. Los fragmentos, privados de centrómeros llegan a parar en el plasma y se destruyen por lisis. Con esto se altera el equilibrio génico y estas células mueren. Al separarse los centrómeros, los dicéntricos entran en los núcleos hijos, sin embargo, en las siguientes mitosis se realizará la disyunción de sus centrómeros hacia los polos opuestos y los dicéntricos se romperán.

INVERSIONES. El fenómeno de la inversión fue también descubierto en los primeros trabajos sobre la genética de *Drosophila*. En 1926 Sturtevant encontró que en el brazo derecho del tercer cromosoma en algunas líneas aparece el factor *C*, el cual deprime el entrecruzamiento en los heterocigotos. Sin embargo, en los individuos homocigóticos

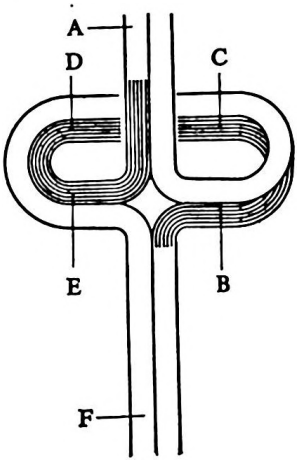


Fig. 213. Conjugación en forma de asa durante la heterocigosis por inversión

El segmento invertido—*B*, *C*, *D*, *E*—está sombreado

para el propio factor *C* el entrecruzamiento transcurre normalmente. La investigación del intercambio en estos individuos demostró que en el cromosoma con factor *C* un determinado segmento de los genes está invertido. La situación se aclaró definitivamente cuando las inversiones fueron investigadas bajo el microscopio en los cromosomas gigantes. Resultó que las inversiones son, en realidad, un giro físico del segmento dentro del cromosoma en 180°. En la meiosis incluso en las células de las glándulas salivales, debido a la acción de las fuerzas de atracción homóloga, las inversiones heterocigóticas adquieren la forma de asa (fig. 213).

Las consecuencias del entrecruzamiento en los heterocigotos para la inversión dependen de si las inversiones incluyen o no el centrómero. Las inversiones que transcurren por un lado del centrómero llevan el nombre de paracéntricas. Si el segmento invertido contiene el centrómero esta inversión se llama pericéntrica. El entrecruzamiento en la inversión paracéntrica entre dos cromatidas no fraternas conlleva a la formación de dos cromátidas con estructuras alteradas, una de las cuales es dicéntrica, o sea, incluye dos centrómeros, y la otra tiene forma de fragmento acéntrico (fig. 214). Vemos que gracias a la divergencia de los centrómeros, al dividirse la célula, el dicéntrico forma un puente cromatídico, y en cuanto al fragmento acéntrico, éste sale del núcleo desintegrándose por lisis en la célula. Lo mismo, en resumidas cuentas, ocurre también con el dicéntrico (fig. 214, *IV*). Como resultado, sólo quedan viables las cromátidas que no hayan sufrido el entrecruzamiento (fig. 214, *IV*). Esta circunstancia es la causa por la cual los individuos heterocigóticos por inversión no producen recombinaciones para genes de la inversión. En

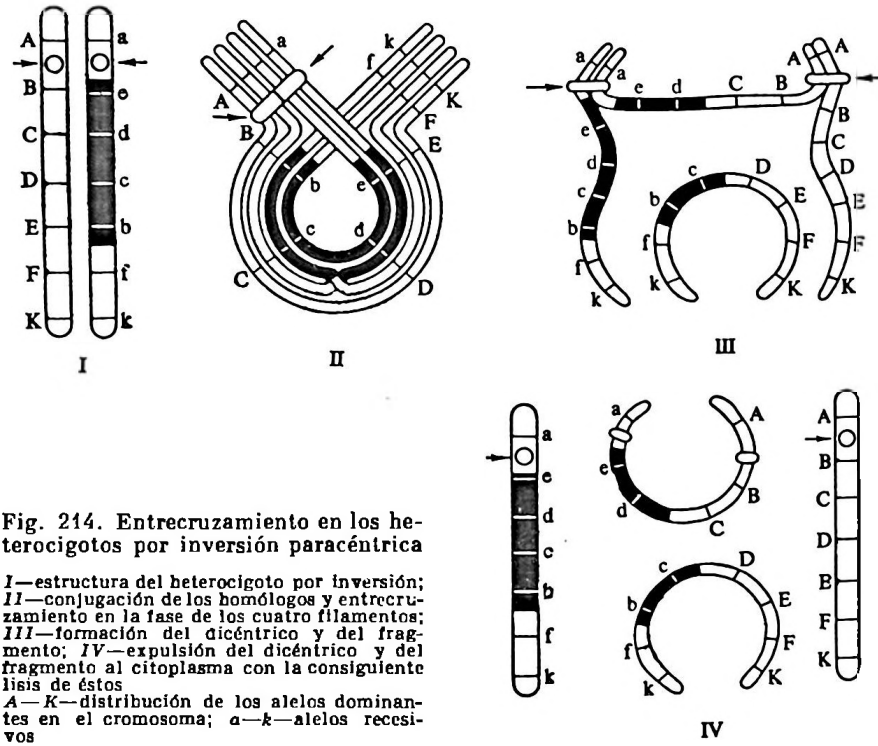


Fig. 214. Entrecruzamiento en los heterocigotos por inversión paracéntrica

I—estructura del heterocigoto por inversión; *II*—conjugación de los homólogos y entrecruzamiento en la fase de los cuatro filamentos; *III*—formación del dicéntrico y del fragmento; *IV*—expulsión del dicéntrico y del fragmento al citoplasma con la consiguiente lisis de éstos
A—*K*—distribución de los alelos dominantes en el cromosoma; *a*—*k*—alelos recesivos

1936 Sturtevant y Beadle demostraron que en la ovogénesis de *Drosophila* se incluye en el óvulo una de las cromátidas que no experimenta entrecruzamiento y en todas las demás cromátidas, incluyendo también todas las alteradas, van a parar en los corpúsculos polares.

Con la aparición de inversiones pericéntricas, a menudo cambia la forma de los cromosomas, lo que se observa perfectamente en las metafases. Esto está relacionado con que la forma del brazo y de todo el cromosoma en conjunto, se determina por la posición en éste del centrómero. El traslado del centrómero cambia su forma. El entrecruzamiento en los heterocigotos por inversión pericéntrica conlleva a la aparición dentro de la tétrada de las cromátidas entrecruzadas, cada una de ellas con deleción y exceso de material genético (fig. 215).

Uno de los fenómenos más notables, relacionado con el entrecruzamiento en las inversiones paracéntricas, es la aparición del ciclo «ruptura—unión», descubierto por B. McClintock. La cromátida dicéntrica no siempre sale en la anafase del núcleo que se divide. Los centrómeros que se separan pueden ser atraídos

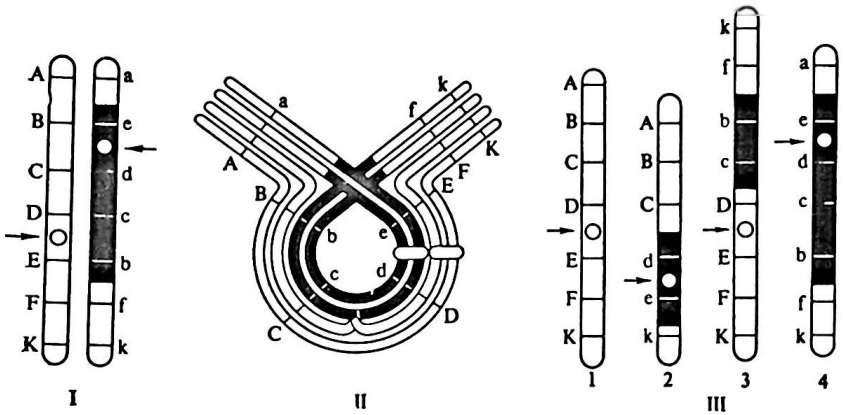


Fig. 215. Entrecruzamiento en los heterocigotos por inversión pericéntrica

I—estructura del heterocigoto por inversión; *II*—conjugación de los homólogos y entrecruzamiento en el período de los cuatro filamentos; *III*—formación del cromosoma con deficiencia y duplicación; *1—4*—cromosomas normales; *2*—cromosoma con deficiencia; *3*—cromosoma con duplicación. Ver las demás designaciones en la fig. 214

hacia los núcleos hijos y entonces, el puente cromatídico al no soportar la tensión, se rompe (fig. 216). Los fragmentos céntricos se conservan en los núcleos hijos y junto con todos los cromosomas sufren la autorreproducción (fig. 216, autorreproducción). Resultó ser que en el transcurso de todo este tiempo, los lugares de ruptura mantenían la capacidad de unirse. Por eso, después de la autorreproducción, las cromátidas hermanas se unen (fig. 216, unión) y forman un nuevo dicéntrico. Este dicéntrico forma en la siguiente división un nuevo puente cromatídico (fig. 216, formación del puente). Este último se rompe y de nuevo comienza el ciclo de «ruptura—unión». Ya que las rupturas de los puentes cromatídicos ocurren a niveles diferentes, su tamaño varía de célula en célula disminuyendo en unas células y aumentando en otras (fig. 216, nueva fusión).

ISOCROMOSOMAS. En algunos casos los cromosomas de brazos simétricos (metacéntricos), los tienen idénticos por su estructura y contenido genético, parecen reflejados por un espejo. Los isocromosomas se forman como resultado de la ruptura transversal del centrómero y la duplicación del fragmento que tiene posición terminal del centrómero (fig. 217) Los cromosomas *X* unidos en *Drosophila* son un clásico ejemplo de los isocromosomas. Estos últimos se han descubierto en una serie de plantas y animales, e incluso en el hombre.

CROMOSOMAS ANULARES. Los cromosomas anulares no son más que la estructura natural de las moléculas de DNA en una serie de procariotas, tales como

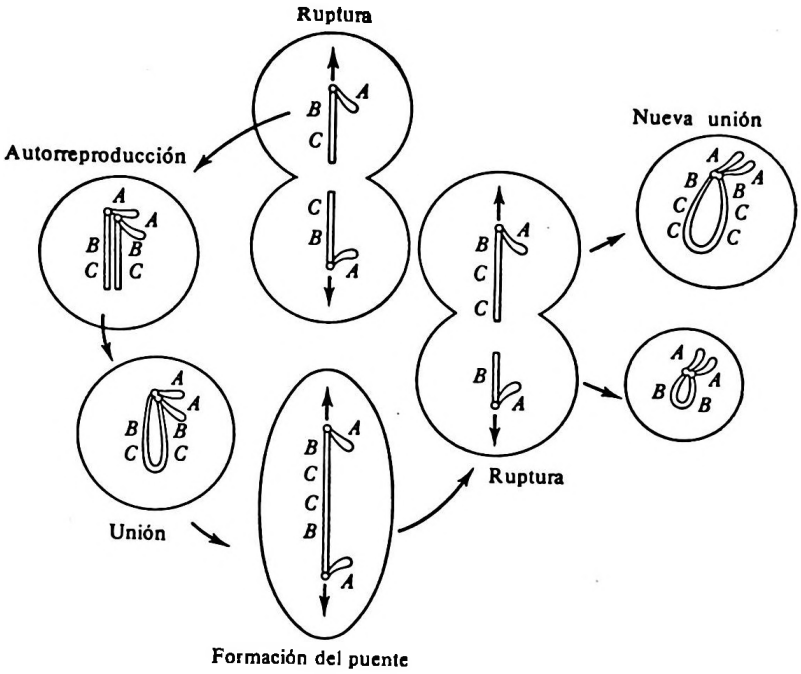


Fig. 216. Proceso de ruptura-reunión mediante la existencia de dicéntrico en el maíz (según B. McClintock)

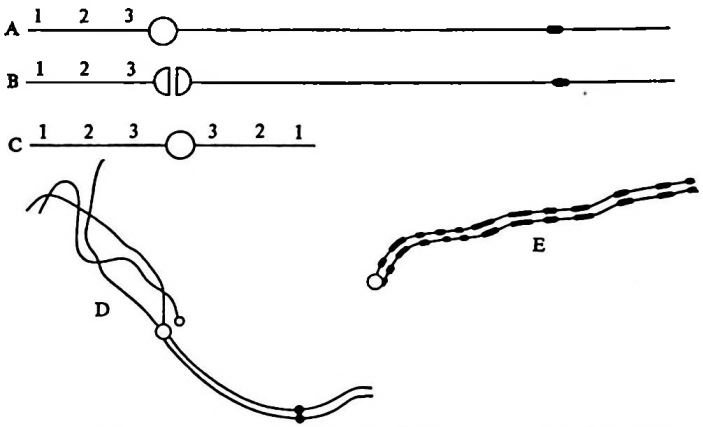


Fig. 217. Formación de isocromosoma del brazo del *V* cromosoma del maíz

A—*V* cromosoma del maíz; *B*—corte transversal en el centrómero con la formación del fragmento 123, que tiene centrómero terminal; *C*—aparición de duplicación invertida de tandem, isocromosoma; *D*—conjugación de los brazos del isocromosoma en la paquitena de meiosis; *E*—isocromosoma

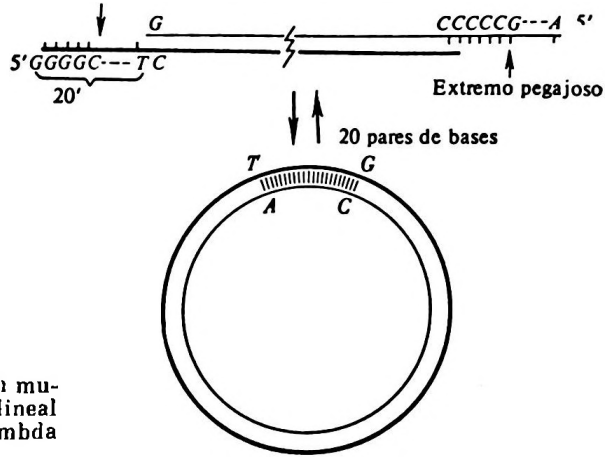


Fig. 218. Conversión mutua del cromosoma lineal y anular del fago lambda

los virus y las bacterias. Esta misma forma de las moléculas de DNA es característica para los episomas y las plasmidas. Este último convierte el fenómeno de los cromosomas anulares en sumamente importante para los métodos modernos de la ingeniería genética. El cromosoma del fago lambda existe en dos formas sucesivas, es decir, puede ser anular y lineal. Esto está condicionado por la presencia de extremos «pegajosos» de un solo filamento en el cromosoma lineal del fago. Estos extremos contienen hasta 20 bases complementarias para distintos extremos unifilamentosos. Esta estructura lineal se enrolla en el anillo y entre los extremos viscosos aparecen enlaces de hidrógenos. Dicha estructura es reversible en el cromosoma lineal (fig. 218). El cromosoma de *Escherichia coli* tiene 1 mm de longitud y un peso aproximado de $2 \cdot 10^9$, duplicándose en la forma anular (fig. 219). Algunos virus contienen un cromosoma anular de cadena simple. En estas formas, el proceso de duplicación del anillo pasa por la fase de la doble espiral de DNA, ya que el mecanismo de replicación semiconservativa se realiza en la molécula de doble cadena. La particularidad de la reproducción de estos virus radica en que el filamento complementario con signo contrario, en la doble espiral de DNA desempeña un papel de participante provisional en la replicación (fig. 220).

En las células vegetales y animales también existen moléculas naturales anulares de DNA, que portan su información genética específica. Esto se refiere al DNA de las mitocondrias y de diferentes plasmidas.

Con la aparición de mutaciones estructurales en las eurocariotas, todos los casos de reunión de los fragmentos y reestructuraciones de intercambio, por lo visto, se basan en la aparición de

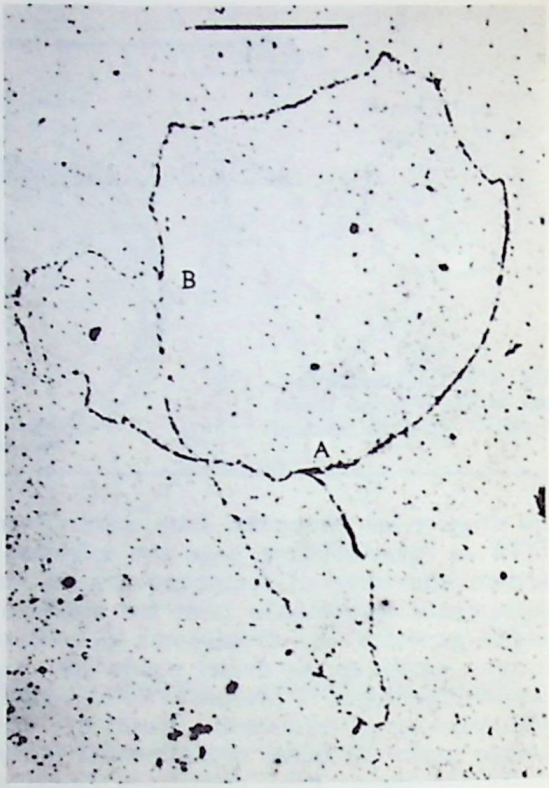


Fig. 219. El cromosoma de *E. coli* DNA que se duplica. El DNA está marcado con timidina H^3

A—punto inicial de la replicación;
B—lugar donde se desarrolla la duplicación del cromosoma anular que se duplica en 2/3 de su círculo. Arriba; la escala es de 100 μ (según J. Cairns, 1963)

los fragmentos de extremos «pegajosos» que poseen un determinado grado de complementación.

Con dos rupturas en el cromosoma se forma un fragmento medio con dos extremos «viscosos» y dos finales. Estos últimos se unen, mientras que el fragmento intermedio, debido a la unión de sus estructuras terminales unifilamentosas, se cierra en el anillo.

La formación de tales cromosomas anulares es uno de los rasgos característicos de la mutagénesis estructural espontánea e inducida (fig. 221). Al «pulverizarse» los cromosomas, cuando en las células vegetales o animales cada cromosoma se divide en un gran número de pequeños fragmentos, éstos se encierran en los microanillos. La escisión de los cromosomas de los virus y las bacterias con ayuda de la enzima restrictasa conlleva a la aparición de muchos microanillos.

Mediante la formación en las células de formas superiores de los cromosomas anulares, que incluyen el centrómero, los anillos

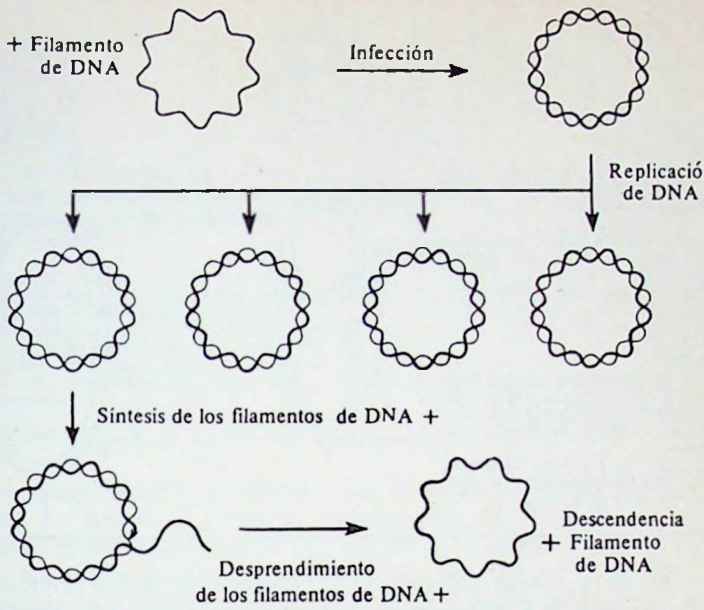


Fig. 220. Replicación de la molécula de cadena simple de DNA

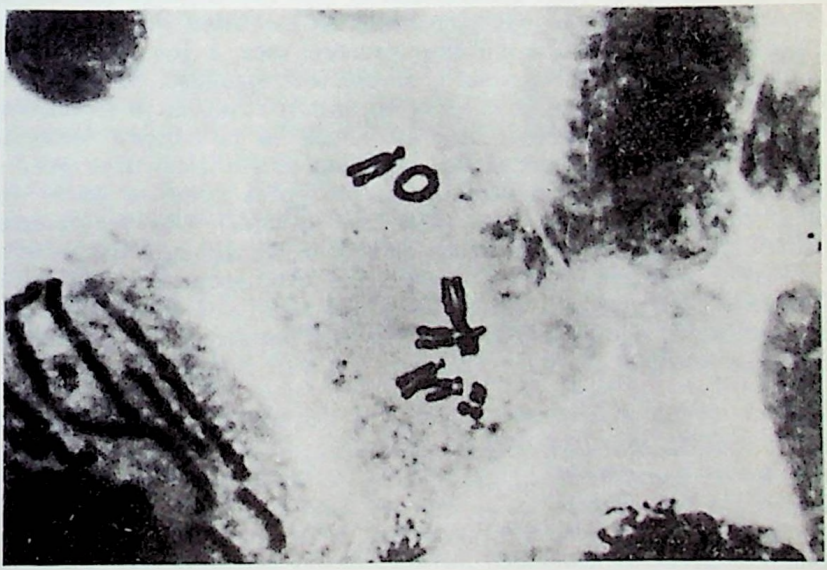


Fig. 221. Cromosoma anular en la célula de *Crepis capillaris*

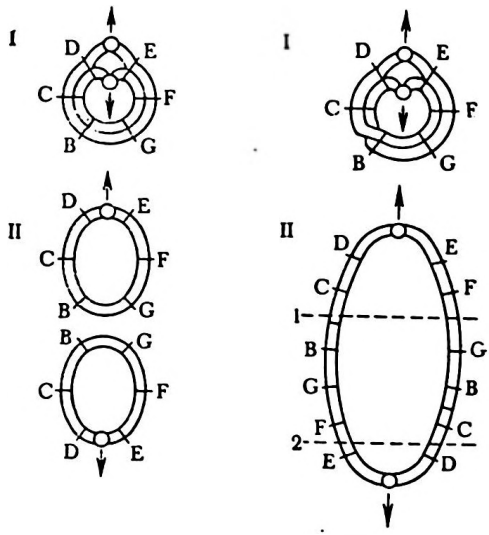


Fig. 222. Duplicación del cromosoma anular

I—la síntesis del DNA conlleva a la aparición de una doble estructura;
II—dos cromátidas fraternas anulares

Fig. 223.

I—conjugación de los anillos fraternos y formación, mediante el entrecruzamiento del anillo dicéntrico de doble tamaño;
II—anillo dicéntrico estirado durante la anafase; *1*, *2*—lugares de rupturas;

pasan a través de la mitosis y se transmiten a las generaciones celulares posteriores (fig. 222). Los anillos acéntricos, en la mitosis, van a parar en el citoplasma y se destruyen por lisis.

El destino de los anillos céntricos está relacionado también con el proceso del entrecruzamiento. En las condiciones de la mitosis tiene lugar el entrecruzamiento somático entre las cromátidas hermanas. Cuando este proceso toca a los cromosomas anulares, éstos sufren una serie de transformaciones. Mediante el entrecruzamiento somático, los cromosomas anulares se intercalan uno en el otro, formando dos eslabones de la cadena (círculos intercalados). Ellos pueden unirse en un anillo dicéntrico grande (fig. 223), que al ser estirado hacia los polos opuestos entre dos centrómeros, se rompe en distintos niveles. Los fragmentos céntricos separados se encierran en anillos de distinta dimensión.

Estas propiedades convierten a los cromosomas anulares de las eucariotas en estructuras inestables eliminándose finalmente. La aparición de cromosomas anulares está registrada en la mutagénesis de muchas plantas, animales y en el hombre.

ENSARTE DE LOS CROMOSOMAS ANULARES. El ensarte de los cromosomas anulares posee una forma peculiar de su variabilidad estructural. En estos casos, un anillo se ensarte en el cromosoma en forma de bastón de material de su propio cromosoma o de otro. Esta formación estructural no es producto de una casual introducción mecánica del cromosoma en forma de bastón en el anillo. Dicho ensarte surge como mutación en la fase de la presíntesis del DNA.

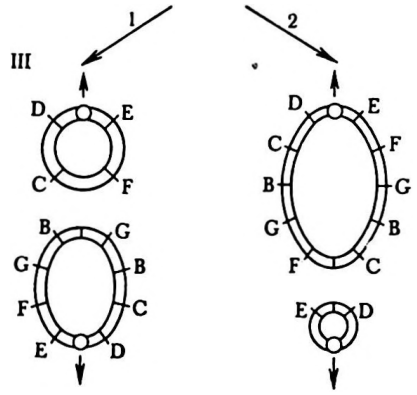


Fig. 223. Formación de anillos centroméricos simples mediante el entrecruzamiento mitótico y las rupturas

III—anillos centroméricos de distintas dimensiones, como consecuencia de diferentes lugares de rupturas. Con pequeñas flechas están señalados los centrómeros, y con las letras latinas B—G, los segmentos del cromosoma

La importancia principal del fenómeno del ensarte consiste en que su análisis permite penetrar en algunos aspectos de los procesos moleculares en la formación de las mutaciones estructurales, lo que expondremos más adelante. Los cuadros del ensarte se conocen hace tiempo, sin embargo, el análisis de la naturaleza del fenómeno fue hecho en los trabajos de N. P. Dubinin y L. S. Niémtseva de los años 1969—1972. El fenómeno del ensart propiamente dicho posee una importancia universal.

ANEUPLOIDÍA. Las mutaciones de los números cromosómicos del tipo de poliploidía serán analizadas más adelante. Ahora nos detendremos en el surgimiento de los trisómicos y los monosómicos. En la base del surgimiento de estas mutaciones se encuentra el fenómeno de la no disyunción de los homólogos en el par de cromosomas, que condiciona el surgimiento de los trisómicos y monosómicos en diferentes cromosomas, lo que conlleva a la aparición de los más variados fenotipos. A. P. Blakeslee describió una dotación completa de trisómicos de la *Datura*. Esta planta tiene 12 pares de cromosomas. Fueron encontrados doce trisómicos diferentes, cada uno con un fenotipo específico. En cuanto a los monosómicos, éstos, en general, son inviables en la *Datura*. Sin embargo, en otras plantas los monosómicos son vitales. Así, vemos que para el tabaco *Nicotiana tabacum*, que tiene 24 pares de cromosomas, se han encontrado 24 monosómicos distintos. Para el trigo blando *Triticum vulgare* se obtuvieron 21 nulisómicos, o sea, plantas con la ausencia de cualquiera de los 21 pares de cromosomas.

Los aneuploides están ampliamente difundidos en el ser humano, lo que representa para el mismo la causa de una serie de graves enfermedades hereditarias. El número normal de cromosomas

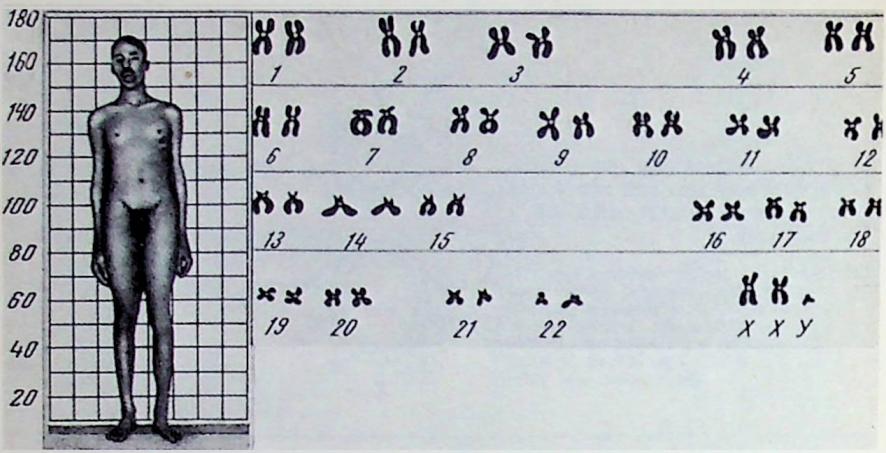


Fig. 224. Síndrome de Klinefelter

Enfermo con cromosomas *XXY*. En la dotación cromosómica están presentes 47 cromosomas en lugar de 46. *1—22*, son los números de pares de autosomas, *X* y *Y*, cromosomas sexuales

Fig. 225. Síndrome de Turner

Enferma con el complejo *XO*. En la dotación cromosómica tiene 45 cromosomas en lugar de 46. *1—22* son números del parautosomas, *X*, cromosoma sexual

en el ser humano es de 23 pares, entre los cuales, en la mujer se tienen dos cromosomas *X*, y en los hombres un par de cromosomas *XY*. La no disyunción, que conlleva a la aparición del complejo *XXY*, provoca la enfermedad del síndrome de Klinefelter (fig. 224). En los varones con una dotación de cromosomas *XXXY* o *XXXXY* se desarrolla la idiotez. Las mujeres con tres cromoso-

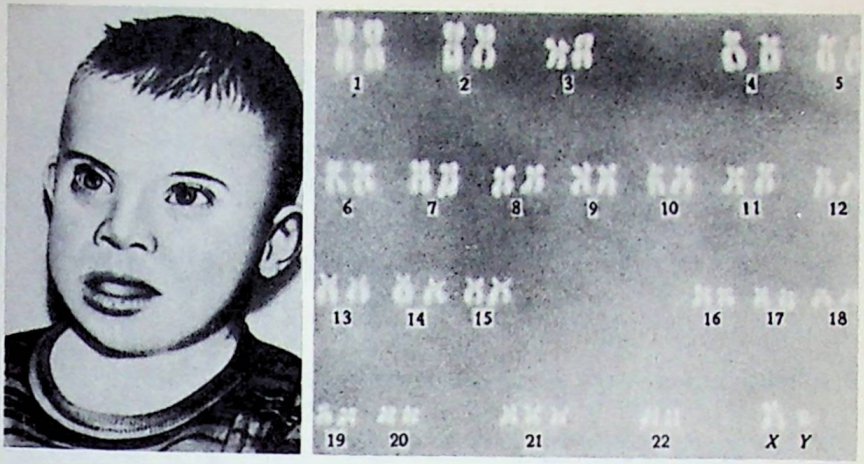
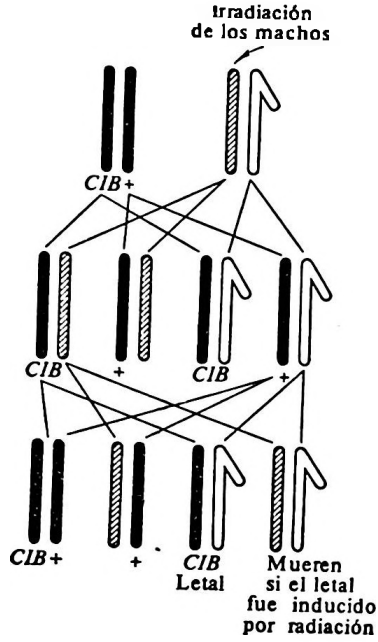


Fig. 226. Síndrome de Down

El enfermo tiene tres cromosomas 21, en la dotación cromosómica tiene 47 cromosomas en lugar de 46

mas *X* (*XXX*) a menudo son estériles. En la monosomía *XO*, o sea, la presencia de 45 cromosomas en las mujeres, surge el síndrome de Turner (fig. 225). La presencia de un cromosoma de más en el número 21 provoca la enfermedad de Down (fig. 226). La trisomía para el cromosoma 13, 14 y 15 provoca retraso en el desarrollo mental, convulsiones y defectos de la vista. La trisomía del cromosoma 22 provoca la esquizofrenia. La presentia de la trisomía a menudo provoca el aborto.

MÉTODO DE CÁLCULO DE LAS MUTACIONES GENÉTICAS EN DROSOPHILA. La teoría de las mutaciones fue expresada por S. I. Korzhinski (1899) y fundamentada y desarrollada por Hugo de Vries (1901). Se demostró que en las condiciones naturales, con determinada frecuencia, aparecen cambios moleculares de los genes, de la estructura de los cromosomas o del número de los mismos. Sin embargo, el estudio de las mutaciones naturales (espontáneas) recibió sólidos fundamentos objetivos sólo después que fueron elaborados los métodos del cálculo cuantitativo del surgimiento de las mutaciones génicas naturales. En el año 1920, Muller propuso los métodos del cálculo de la aparición de las mutaciones letales ligadas al sexo en *Drosophila* creando la llamada metodología *ClB*. Los símbolos *ClB* señalan la presencia de mutaciones elegidas especialmente en el cromosoma sexual. El signo *B* significa la mutación *Bar*, la cual, siendo dominante, permite marcar el cromosoma y observarlo, cuando éste se encuentra en estado



Eig. 227. Método del cálculo de las mutaciones letales surgidas en el cromosoma sexual de *Drosophila*, con el empleo del cromosoma *ClB*

El cromosoma a investigar está señalado con rayas, el cromosoma *ClB* con el color negro

heterocigótico. La designación *C* indica la presencia del supresor del entrecruzamiento (inversión) en dicho cromosoma *X*. El símbolo *l* señala la presencia en el mismo cromosoma de la mutación letal recesiva.

Los machos a investigar se cruzan con las hembras *ClB* y de la primera generación se seleccionan hembras $ClB/+^{l}$ donde el signo + significa un cromosoma inicialmente normal a probar. En el caso que en el cromosoma investigado surja una mutación letal, la hembra *ClB* del F_1 tendrá la estructura $ClB/+^{l}$. Esta hembra dará descendencia compuesta sólo por hijas, ya que tanto los machos *ClB* como los machos $+^{l}$ mueren (fig. 227). En los últimos tiempos una gran difusión ha tenido otro método de Muller, es decir, el llamado Muller-5, donde se emplean cromosomas marcados no letales. Las hembras de la línea Muller-5 son homocigóticas para el cromosoma ysc^{8} σ49. El símbolo sc^{8} señala la presencia de la mutación *scute*[8] (reducción de las quetas), relacionada con la inversión que abarcó la mayor parte del cromosoma *X*. El símbolo σ49 indica la presencia de la inversión en la parte media del cromosoma *X*. La combinación de ambas inversiones en un cromosoma *X* prácticamente exceptúa el entrecruzamiento en éste. El símbolo *y* señala la mutación *yellow* (cuerpo amarillo). El esquema de detección de las mutaciones con ayuda

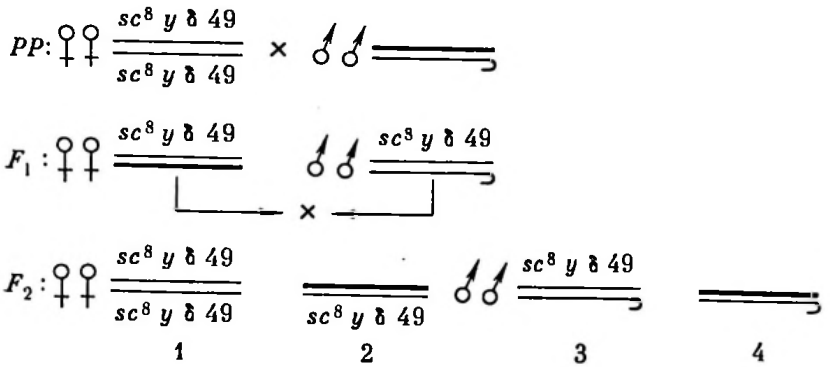


Fig. 228. Método del cálculo de las mutaciones letales y otras, surgidas en el cromosoma sexual de *Drosophila* por el método de Muller-5

F_2: 1—hembras $sc^8 y \delta 49$; 2—hembras fenotípicamente normales, heterocigóticas para la mutación letal recién aparecida (cromosoma negro) en el cromosoma *X*; 3—machos amarillos con las quetas reducidas (ysc^8); 4—los machos mueren debido a la presencia de la mutación letal

de esta metodología está representado en la fig. 228. La aparición de mutaciones visibles en *Drosophila* exitosamente se estudia con ayuda del método de los cromosomas *X* unidos. Mediante el cruzamiento de una hembra con cromosomas sexuales unidos y el macho sometido a prueba, todas las hijas reciben cromosomas *X* unidos por parte de la madre, y los machos reciben cromosomas *X*

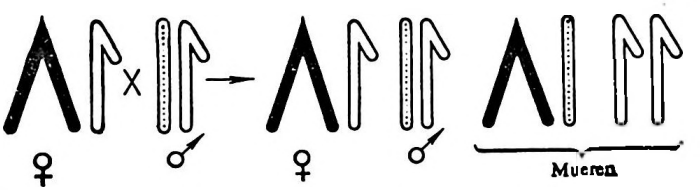


Fig. 229. Método del cálculo de las mutaciones visibles, surgidas en el cromosoma *X* de *Drosophila*, con el empleo de la metodología de los cromosomas sexuales unidos

del padre. Generalmente en los cromosomas *X* asociados existe el gene *y* (*yellow*-cuerpo amarillo) en estado homocigótico. Debido a esto, todas las hembras $\widehat{XX}$ serán amarillas, y todos los machos normales (grises) (fig. 229). La aparición de algunos pocos machos con una u otra mutación visible entre una masa de los normales da la posibilidad de valorar cuantitativamente la frecuencia de la aparición de una determinada mutación y el ritmo sumario de la aparición de cambios visibles.

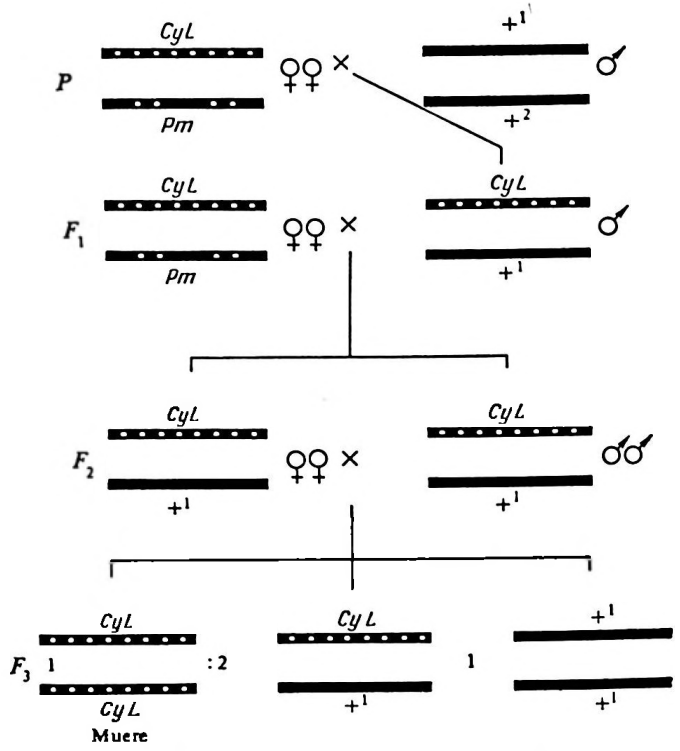


Fig. 230. Método para el cálculo de las mutaciones letales en el *II* cromosoma de *Drosophila*

Explicación se da en el texto

Las mutaciones letales en los autosomas de *Drosophila* se tienen en cuenta con ayuda del método de letales equilibrados. Esta metodología se basa en la utilización de las mutaciones dominantes y las inversiones. Como ejemplo pueden servir las mutaciones dominantes de los genes en el segundo cromosoma: *Cy* (alas retorcidas), *L* (ojos lobulados) y *Pm* (color castaño de los ojos). En el cromosoma, donde se encuentran genes *CyL*, el entrecruzamiento está cerrado por dos inversiones. El individuo *CyL/Pm* se cruza con uno normal. Del F_1 se elige un macho $CyL/+^1$ (fig. 230), el cual se cruza con una hembra *CyL/Pm*. Del F_2 se toman un macho y una hembra $CyL/+^1$, que llevan inicialmente un mismo cromosoma. La generación F_3 da la respuesta si apareció o no en el cromosoma a investigar la mutación letal. Si no ocurrió mutación alguna, entonces en cada probeta tendrá lugar la segregación por la fórmula: $2CyL/+^1 : 1\ +^1+^1$, como está representado en la fig. 230. Si en el cromosoma $+^1$ aparece una mutación letal,

entonces las moscas de la categoría $+^1+^1$ (dos cromosomas negros, véase fig. 230) morirán, y en la probeta aparecerá sólo una clase de éstas con fenotipo *CyL*. Dichas líneas resultan equilibradas, ya que los homocigotos $+^1+^1$ también sucumben, y éstas, sin selección, pueden multiplicarse en número infinito de generaciones.

FRECUENCIA DE MUTACIÓN GÉNICA. Las investigaciones sobre la aparición de mutaciones letales en el cromosoma *X* de *Drosophila* demostraron que, en término medio, éstas surgen con una frecuencia de 0,15% por generación. En el segundo cromosoma su frecuencia equivale a 0,5%. Lo mismo sucede en el tercer cromosoma. Así que, en total, según el genoma en *Drosophila* en el 1,2% de gametos por generación surgen mutaciones letales. Al calcular tanto las mutaciones visibles como las pequeñas diversas, hay que reconocer que alrededor del 5% de los gametos en cada generación adquieren mutaciones recién aparecidas que varían la información genética normal.

La investigación de la mutabilidad natural (espontánea) estableció el hecho importante de la existencia de diferencias en

Tabla 18

Frecuencias de mutación natural de algunos genes en el maíz y Drosophila

Objeto	Mutación de los alelos normales a los genes recesivos	Número de gametos estudiados	Cantidad de mutaciones por cada 10000 gametos
Maíz	*Wx* (endosperma céreo)	1 503 744	0
	pr (color colorado de la aleurona)	647 102	0,11
	sh (endosperma encogido)	2 469 285	0,012
	sn (endosperma sacarífero)	1 678 731	0,024
	l	256 397	1,06
	r^r (antocianina)	43 416	18,2
Drosophila	*y* (cuerpo amarillo)	70 000	0,29
	w (ojos blancos)	70 000	0,29
	lr (ojos brillantes)	70 000	0,29
	ct (alas cortadas)	60 000	1,50
	v (ojos bermellón)	60 000	0,30
	f (quetas furcadas)	6 000	0,30

las potencias individuales de distintos genes de producir mutaciones. En la tabla 18 se da un resumen con los datos de la mutabilidad de una serie de genes en el maíz y *Drosophila*.

Vemos qué grandes son las diferencias en la capacidad para las mutaciones en los genes individuales. Existen todas las transiciones desde la estabilidad exclusiva de los genes, de cuyo ejemplo sirve el gene *Wx* en el maíz, hasta una mutabilidad muy grande en el gene *r*.

EN *NEUROSPORA*, BACTERIAS Y FAGOS. En 1945, G. G. W. Beadle y E. L. Tatum, en los trabajos con *Neurospora*, propusieron un método extraordinario para el cálculo cuantitativo de las mutaciones bioquímicas. Los conidios del tipo salvaje de *Neurospora* sometidos a experimento son fecundados por el tipo salvaje del sexo opuesto. De los cuerpos fructíferos (peritecios) se toman esporas, cada una de las cuales da comienzo al micelio. Las líneas del tipo salvaje viven en el medio mínimo. Siendo prototróficos, éstas, de diferentes compuestos simples que forman parte de este medio, sintetizan todas las sustancias necesarias. En caso de mutaciones, se bloquea una u otra etapa de la síntesis, por eso al principio, para conservar todas las mutaciones aparecidas, las esporas se siembran en el medio completo. En este medio, donde se han agregado las sustancias fundamentales, cuya síntesis puede ser bloqueada por separado por una u otra mutación, dichas células mutantes se desarrollan y se reproducen. Luego, éstas se comprueban individualmente en el medio mínimo. Aquellas que mueren en condiciones determinadas son mutantes bioquímicos. Cada una de ellas se investiga con el fin de determinar precisamente cuál de las sustancias debe ser introducida en el medio para que las células mutantes sobrevivan. Esto se hace valiéndose del complejo de aminoácidos, vitaminas, bases nitrogenadas y otros. La última prueba permite determinar la sustancia. cuya síntesis la bloquea el gene mutante. En condiciones naturales, las frecuencias de mutación en genes individuales por lo general no son grandes. Por ejemplo, las frecuencias de la mutación inversa «carencia de adenina» a la norma oscilaban entre 3×10^{-8} y 8×10^{-8}.

Se desarrolló en gran escala la investigación de las mutaciones en las bacterias. Los trabajos iniciales de esta tendencia fueron hechos por S. E. Luria y M. Delbrück (1943) y por M. Demerec y U. Fano (1945). El colibacilo *E. coli* es una de las bacterias más difundidas en el hombre. Para el momento se conocen muchas mutaciones en esta bacteria. Por ejemplo, las células comunes del colibacilo son afectadas fácilmente por el bacteriófago, el cual penetra en ellas, se multiplica provocando su lisis. Sin embargo, a veces aparecen colonias de bacterias, las cuales son resistentes al bacteriófago. Estas surgen como células aisladas, entre la masa de células habituales de bacterias irresistentes al bacteriófago.

Un largo tiempo en la Bacteriología dominó la teoría de la adaptación, que trata de la adaptación directa de las bacterias a los factores del medio ambiente. Desde este punto de vista, la aparición de las células bacterianas. adaptadas a cualquier factor del medio externo. se produce como resultado de la interacción con este factor mediante la variación dirigida y adaptativa de la célula en respuesta a la influencia de éste.

La teoría de las mutaciones cambió de raíz el criterio sobre la esencia de la variabilidad hereditaria en las bacterias y sobre los procesos de la aparición en ellas de nuevos caracteres adaptativos.

Veamos el ejemplo con la aparición en la *E. coli* mutantes capaces de hacer fermentar la lactosa. La cepa de *E. coli* no es apta de hacer fermentar la lactosa, dejando de crecer en el medio donde la lactosa es fuente de carbono. Si en este medio mantenemos una masa de células de esta cepa, al principio no descubriremos crecimiento del cultivo. Sin embargo, al final del día, este último comienza a fermentar la lactosa desarrollándose activamente. Este nuevo carácter adquirido resulta ser hereditario, lo mismo tiene lugar con el surgimiento de células resistentes a los antibióticos, al bacteriófago y a otros agentes. En experimentos detallados se aclaró que en la base de estos procesos, los cuales por mucho tiempo se contemplan como producto de la adaptación directa, en realidad está la aparición de mutaciones y la acción de la selección. Así, en relación con la capacidad de hacer fermentar la lactosa se llevó a cabo el experimento siguiente. Las células del cultivo *E. coli*, que no fermentan la lactosa, fueron sembradas en una cápsula de Petri, que contenía lactosa y en otra que contenía galactosa. Resultó que por cada 100 000 células, crecidas de las colonias en el medio de la galactosa, sólo una se desarrolló en el medio de la lactosa. Estas pocas células poseían una capacidad evidente de fermentar la lactosa y se la transmitían a sus descendencias. De esta manera, en la masa de células de la cepa, incapaz de fermentar la lactosa, con una frecuencia de 10^{-5} aparecieron mutaciones que le garantizaban la aparición de la cualidad para fermentarla. Las bacterias se dividen cada 40 minutos aproximadamente. De esta forma, dentro de 22 horas una célula mutante inicial puede dar 10^9 descendientes, las células de 100 000 restantes, o sea, precisamente 99 999 no se multiplicarán. De esta manera, al cabo de 24 horas, los descendientes de una célula mutada sobrepasan considerablemente por su cantidad el número de células, introducidas en el cultivo.

Cuando fue utilizado el método de impresiones, se demostró definitivamente que la aparición de las mutaciones naturales en las bacterias que han cambiado sus propiedades adaptativas, de ninguna manera exige el contacto de éstas con el factor, con respecto al cual estas propiedades se manifiestan.

El método de las impresiones o réplicas consiste en la «reimpresión» de las colonias del medio completo en dos cápsulas de Petri, una con el medio mínimo y la otra con el completo. Las impresiones se llevan a cabo con ayuda de un disco estéril de terciopelo o de papel de filtrar cuyo diámetro sea igual al de la cápsula de Petri. En la fig. 231 están representadas dos cápsulas de Petri, réplicas, con impresiones de colonias bacterianas. A la izquierda están las colonias que crecieron en el medio completo,

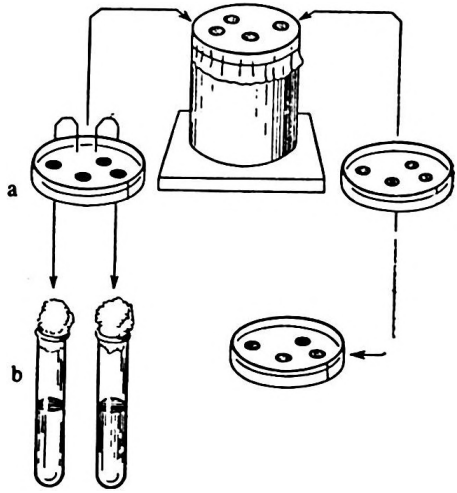


Fig. 231. Metodología para el cálculo de las mutaciones en las bacterias con ayuda del método de la réplica

Cápsulas de Petri con impresión de las colonias de las bacterias: *a*—colonias cultivadas en el medio sin estreptomicina; *b*—tres colonias, resistentes a la estreptomicina, cultivadas en el medio con este antibiótico

y a la derecha en el medio con estreptomicina. Vemos que en el medio con estreptomicina se ha registrado la aparición de tres colonias, resistentes a la estreptomicina, todas las demás colonias murieron. Sin embargo, el análisis de las características de las colonias que ocupan el mismo lugar en la cápsula de Petri, réplica' con el medio completo, demuestra que los representantes de estos mutantes resistentes a la estreptomicina aparecen también en dicha cápsula. De esta manera, las mutaciones surgieron en la cápsula de Petri inicial, de la cual se hicieron las réplicas y que no contenía estreptomicina. Si la influencia de la estreptomicina hubiera sido el motivo de la adaptación directa, y por la acción de ella hubieran surgido las tres colonias descubiertas, entonces es obivo que sus representantes no hubiesen estado presentes entre las colonias en la cápsula de Petri, réplica. En realidad, en la cápsula, donde aun no había influencia de la estreptomicina, se encuentran tres colonias, perfectamente resistentes a la acción de la estreptomicina.

El método de las réplicas, empleado para el análisis de la aparición de los más diferentes tipos de mutaciones, no dejó ni sombra de dudas de que la resistencia a los fagos y los antibióticos, la aparición de mutaciones bioquímicas y cambios de todos los demás caracteres de las bacterias se rigen por las leyes de las mutaciones objetivamente casuales en independencia de los contactos de las células con los agentes respectivos. En todos los casos, como células iniciales sirven algunas células mutantes que dan comienzo a las colonias y poblaciones, las cuales resultan adaptadas a los nuevos factores del medio ambiente. Así, por

ejemplo, según datos de Luria y Delbrück (1953), las mutaciones resistentes al bacteriófago en la *E. coli* surgen con una frecuencia de 245×10^{-8}. Es evidente que en enormes poblaciones de bacterias compuestas por una cantidad gigante de individuos, siempre surgirán mutaciones que permitirán reestructurar bioquímicamente una u otra célula bacteriana de tal forma que ésta comenzará a responder ante sus necesidades vitales que surjan bajo la acción de nuevos factores del medio ambiente.

En muchos casos, el desarrollo de una alta resistencia de las bacterias a los nuevos factores del medio externo exige una complicada reestructuración en la bioquímica celular para la cual una mutación es insuficiente. En estas condiciones, la selección comienza la integración de una serie de mutaciones consecutivas. Surge el cuadro del carácter gradual en el desarrollo de la adaptación. Esta es la historia del desarrollo de la adaptación gradual a la penicilina de una serie de bacterias. Primeramente, las pequeñas dosis de penicilina con efecto mataban las bacterias. Sin embargo, el uso prolongado de este antibiótico produjo transformaciones en las poblaciones bacterianas. Gradualmente, mediante la selección escalonada de una serie de mutaciones, las cepas resultaron ser resistentes no sólo a las pequeñas, sino a las elevadas dosis de penicilina.

Se han elaborado los métodos perfectos de estudio de las mutaciones en los bacteriófagos. Estos virus se han convertido, en el presente, en uno de los objetos principales en los trabajos sobre la genética molecular. Un rol especial lo jugó el análisis de las llamadas mutaciones convencionalmente letales. Por esta categoría de mutaciones se sobreentienden las variaciones hereditarias de los bacteriófagos que no se manifiestan en las condiciones normales, aunque, en otras condiciones preparadas resultan letales. Por lo tanto, estos mutantes se pueden obtener y conservar en condiciones normales para estudiar detalladamente al cambiar condiciones. A estas mutaciones condicionalmente letales pertenecen las mutaciones sensibles a las temperaturas y las llamadas mutaciones ámbar.

Después de la salida de la célula, las partículas del fago, que se han multiplicado en ésta, infectan las células vecinas y esto conlleva a que en la densa siembra de *E. coli* surjan las llamadas manchas estériles, es decir, sectores con las células lisadas. Fueron descubiertas mutaciones del bacteriófago, las cuales cambian la morfología ordinaria de las manchas estériles, acondicionaban la diferente resistencia de las partículas del bacteriófago a los compuestos químicos, etc. Sin embargo, la clase de mutaciones letales, que por lo general es la más numerosa, no se podía investigar por este método, ya que una partícula mutante aislada del bacteriófago con gene letal debía simplemente morir, escapando al investigador. En ayuda vino el descubrimiento de la clase de mutaciones condicionalmente letales. Así, el tipo salvaje de

fago *T4* se desarrolla formando manchas estériles dentro de amplios límites de temperaturas que oscilan, entre 25° y 42°C. Los mutantes dependientes de la temperatura se reproducen normalmente a 25°, y a 42° no forman manchas estériles, es decir, mueren.

Los mutantes ámbar no son capaces de desarrollarse en una línea determinada de *E. coli*, por ejemplo, en la *E. coli B*, pero se reproducen bien en otras cepas. La frecuencia de la aparición de mutaciones naturales (espontáneas) en los bacteriófagos tiene un orden de magnitud igual al que caracteriza la frecuencia de mutación en las bacterias.

MUTACIONES ESPONTÁNEAS EN EL SER HUMANO. El fenómeno de las mutaciones espontáneas está representado ampliamente en el hombre. En el ejemplo de la hemofilia se puede mostrar los enfoques para establecer la frecuencia de mutación de determinados genes en la persona. J. Haldane calculó que una tercera parte de las mutaciones de la hemofilia debe desaparecer de las poblaciones humanas por cada generación. Lo dicho está relacionado con que las mujeres. al poseer dos cromosomas *X*, pueden, en estado heterocigótico, esconder de la acción de la selección la mutación recesiva de la hemofilia. Los hombres, al tener un solo cromosoma, enferman al obtener esta mutación y como regla, no dejan descendencia. Sin embargo, el número de genes de la hemofilia en la población humana no disminuye. De aquí se desprende que la frecuencia de mutación que aparece recientemente debe ser igual a la cantidad de varones, enfermos de hemofilia. Los cálculos demostraron que esta magnitud se oscila desde 1×10^{-5} hasta 5×10^{-5} por generación. Estos y otros métodos permitieron establecer la frecuencia

Tabla 19

Frecuencia aproximada de mutación de distintos genes en el hombre

Carácter de heredamiento	Enfermedad	Frecuencia de mutación	Número de mutaciones por cada 10^6 gametos
Autosómicos dominantes	Esclerosis tuberculosa	8×10^{-4}	800
	Talasemia	4×10^{-4}	400
	Anomalía de Pelger	1×10^{-4}	100
	Condrodistrofia	7×10^{-5}	70
	Retinoblastoma	$2{,}3 \times 10^{-5}$	23
	Epiloia	1×10^{-5}	10
	Aniridia	5×10^{-6}	5
Autosómicos recesivos	Albinismo	$2{,}8 \times 10^{-5}$	28
	Daltonismo	$2{,}8 \times 10^{-5}$	28
	Microftalmía	$1{,}5 \times 10^{-5}$	15
	Idiocia infantil	$1{,}1 \times 10^{-5}$	11
	Ictiosis	$1{,}1 \times 10^{-5}$	11
Recesivos, ligados al sexo	Hemofilia	$3{,}2 \times 10^{-5}$	32

de aparición de las mutaciones para muchos genes en las poblaciones humanas. Una parte de estos datos está plasmada en la tabla 19.

FACTORES DEL PROCESO MUTACIONAL ESPONTÁNEO. El proceso mutacional espontáneo depende de la acción de los factores interno y externo. Una gran importancia tiene la modificación de la mutación natural. Se tienen muchos hechos que demuestran que la frecuencia de mutación natural depende del genotipo. Así en *Drosophila* la frecuencia media de mutación letal en el cromosoma *X* es de 0,15% sin embargo, en la Naturaleza se tienen líneas con tendencia hereditariamente condicionada a la alta mutabilidad. La mutabilidad de alguna línea alcanza el 1% de las mutaciones por generación.

Los factores del medio externo componen la base de la aparición de las mutaciones naturales. Los organismos viven en las condiciones de los efectos sobre éstos de la radiactividad ambiente natural, la cual se forma de rayos cósmicos, radiación terrestre e isótopos radiactivos que penetran en el organismo (Ra, K^{40} y otros). La magnitud media del fondo de radiactividad es, igual a 0,12—0,23 *rad* en el año. El efecto de la radiación natural en los organismos con ciclo corto de vida no es grande. Sin embargo, en la persona, por ejemplo, bajo la influencia del fondo natural de radiactividad puede surgir hasta un 25% del volumen total de las mutaciones espontáneas. Los árboles, como la secoya, viven alrededor de 1000 años y sus células embrionarias reciben en ese tiempo una dosis de 250 *rad*. En estas condiciones, conservar el plasma germinal de los efectos de la deterioración genética que provocan radiación en forma de incontables mutaciones deletéreas, se puede solamente creando una defensa bioquímica especial contra la radiación. La temperatura influye, claro está, en el proceso de la mutación natural. En 1919 H. J. Muller y E. Altenburg demostraron que en *Drosophila*, a temperatura de 27°C la frecuencia de mutación natural es tres veces mayor en comparación con los cultivos que se desarrollaban a 17°. El estado fisiológico de las células ejercen seria influencia sobre el proceso mutacional natural.

M. S. Navashin (1933) en las semillas de *Crepis capillaris* demostró que con el aumento de la edad de las semillas, la frecuencia de mutación natural en sus células incrementa. En general, como factor principal de la mutación natural hay que reconocer los cambios bioquímicos en la célula. A. Novick y L. Szilard investigaron la mutagénesis natural en la *E. coli* en las condiciones del quimiostato. El quimiostato es un aparato de corriente especial, creado para el cultivo continuo de las bacterias (fig. 232). En la cámara del quimiostato, que contiene suspensión de bacterias, se le suministra constantemente sustrato alimenticio. El exceso del medio nutritivo sale de la cámara con la misma veloci-

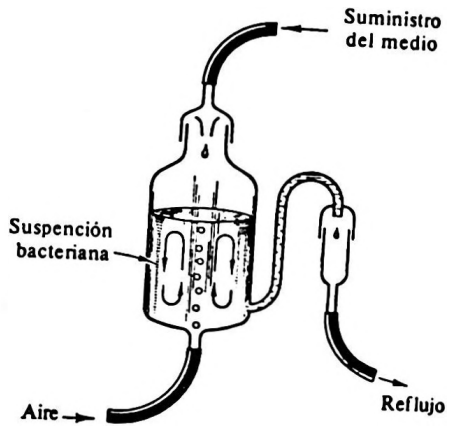


Fig. 232. Quimiostato en acción (según R. Sager, F. J. Ryan)

dad que cuando llega al quimiostato. El número total de células en la cámara no cambia, siendo limitado por la magnitud disponible en la solución de las materias nutritivas (carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, etc.). El análisis que la frecuencia de mutación está en relación con el estado fisiológico y biológico de las bacterias.

Han sido descubiertas sustancias específicas que inhiben la mutación natural y que recibieron el nombre de antimutágenos. Este fenómeno fue descubierto por Novick y Szilard en 1949 en los experimentos con las bacterias. Ahora se conocen muchas sustancias de acción antimutagénica para las bacterias, las células vegetales y animales.

GENES MUTANTES . Entre los factores internos del proceso mutacional natural está la influencia de los genes. La acción de tales genes está en condición de hacer cambiar bruscamente la mutabilidad del organismo. Estos genes recibieron el nombre de genes mutantes.

La existencia de dichos genes en *Drosophila* fue demostrada por M. Demerec en 1941. Luego los genes mutantes fueron descubiertos en el maíz, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, levaduras y otros organismos.

En la *E. coli* fueron encontrados tres genes y cada uno provoca aumento de frecuencia de mutación en todos los genes del colibacilo. Las investigaciones de S. Zamenhof demostraron que durante la transformación los genes se pasaron a otras células, con la particularidad de que el gene mutante trasladado actuaba con la misma efectividad, provocando una elevada frecuencia de mutación.

La acción del gene mutante, según parece, está relacionado con el hecho de que éste cambia las propiedades de la DNA-poli-

merasa, cuya influencia conlleva a la gran difusión de las mutaciones. Así, J. Speyer realmente demostró que el fago *T4*, que tenía mutación en el gene, responsable por la síntesis de la DNA-polimerasa, posee una fuerte mutabilidad creciente. En ese fago, la frecuencia de mutación casi 2000 veces sobrepasó la mutación normal.

Preguntas para discutir

17-1. ¿Qué categoría de cambios hereditarios recibió el nombre de mutaciones naturales o espontáneas?

17-2. Describa los tipos fundamentales de mutaciones naturales·

17-3. ¿Qué cuatro tipos de cambios en la molécula de DNA producen las mutaciones génicas naturales?

17-4. ¿Qué caracteres del organismo se afectan mediante las mutaciones de los genes?

17-5. ¿Qué son las variaciones estructurales de los cromosomas?

17-6. Señale la clasificación de los tipos fundamentales de las mutaciones estructurales.

17-7. ¿Qué son las mutaciones directa e inversa?

17-8. ¿En qué consiste el fenómeno de las deleciones y la seudodominación?

17-9. ¿Por qué se pueden emplear en el trigo los métodos del análisis citogenético con ayuda de la nulisomía?

17-10. ¿Qué son las duplicaciones?

17-11. Describa el fenómeno del entrecruzamiento desigual en el ejemplo de la duplicación *Bar* en *Drosophila*.

17-12. ¿En qué consiste el fenómeno de las translocaciones? ¿Qué translocaciones son simétricas y cuáles son asimétricas?

17-13. ¿Por qué son semiestériles los individuos heterocigóticos por translocación?

17-14. Describa en el ejemplo de *Drosophila* el método genético de detección de las translocaciones.

17-15. ¿Cómo cambia la estructura de los cromosomas con la aparición de las inversiones? ¿En qué consisten las diferencias entre las inversiones paracéntrica y pericéntrica?

17-16. ¿Cuáles son las consecuencias del entrecruzamiento que transcurre en los heterocigotos en la región de las inversiones?

17-17. ¿Qué es el ciclo «ruptura—reunión», establecido para algunas inversiones paracéntricas?

17-18. ¿En qué consiste el fenómeno del aneuploidía?

17-19. ¿Qué relación hay entre el fenómeno de la aneuploidía y la aparición del síndrome de Klinefelter, Down y Turner en la persona?

17-20. ¿Qué métodos se emplean para el análisis cuantitativo de la aparición de las mutaciones en el cromosoma sexual y en los autosomas de *Drosophila*?

17-21. ¿Mutan todos los genes con la misma frecuencia o son diferentes las potencias individuales de algunos genes en cuanto a su mutabilidad? Exponga ejemplos de las frecuencias de mutación en el maíz y la *Drosophila*.

17-22. ¿Existen diferencias de principios en las leyes de la aparición de las mutaciones genéticas en las bacterias y en los fagos, por una parte, y en los organismos superiores, por otra?

17-23. ¿En qué consiste el error de la vieja teoría de la adaptación, es decir, de la adaptación directa de las bacterias a los factores del medio ambiente?

17-24. Caracterice el proceso de la aparición de las mutaciones en las bacterias en el ejemplo de las mutaciones en las cepas de *E. coli*, capaces de hacer fermentar la lactosa.

17-25. ¿Qué problemas de principios en la teoría de las mutaciones fueron resueltos en las bacterias con ayuda del método de las réplicas?

17-26. ¿Qué son las mutaciones ámbar en las bacterias?

17-27. Caracterice la aparición de mutaciones naturales en el hombre.

17-28. ¿Qué condiciones del medio ambiente son las causas de la aparición de las mutaciones naturales?

17-29. ¿Qué son los genes-mutantes?

17-30. ¿Cuáles diferencias caracterizan los isocromosomas de los cromosomas normales en las eucariotas? ¿Como surgen los isocromosomas?

17-31. ¿En cuáles grupos de los organismos se encuentran formas naturales de los cromosomas anulares? ¿Por qué en el fago lambda los cromosomas pueden tener tanto la forma circular como lineal?

17-32. ¿Hay en las células de las eucariotas moléculas anulares de DNA, que portan información genética específica para ellos?

17-33. ¿Son formaciones estables los cromosomas anulares en las eucariotas? ¿Qué variabilidad es propia de los cromosomas anulares y cuál es la causa de ésta?

17-34. ¿En qué consiste el fenómeno del ensarte de los cromosomas anulares?

XVIII Mutagénesis de la radiación

La época de la mutagénesis inducida comenzó después de que G. A. Nadson y G. S. Filippov desubrieron en 1925 el efecto mutagénico de los rayos de radio al tratar con éstos las células de la levadura. Sin embargo, una significación particular tuvo el trabajo de H. J. Muller (1927), el cual fundamentó el hecho del efecto mutagénico de los rayos X, utilizando los métodos del cálculo cuantitativo de las mutaciones en *Drosophila*. Ahora, con el comienzo de la era atómica, la Genética de la radiación maduró en una de las disciplinas científicas importantes de la actualidad, destinada a valorar y defender la herencia humana de las acciones de las radiaciones ionizantes. Al mismo tiempo, se abrieron amplias posibilidades para la intervención de radioselección en el proceso hereditario de las plantas, animales, microorganismos y de los virus.

A partir de una serie de trabajos, en los cuales se hicieron intentos por llevar a cabo la mutagénesis inducida química un importante papel lo desempeñaron las investigaciones publicadas en 1946 independientemente por I. A. Rapoport y Ch. Auerbach, quienes descubrieron la existencia de muchos mutágenes químicos poderosos y con esto comenzaron de hecho la era de la mutagénesis química.

FACTORES PRINCIPALES DE LOS EFECTOS GENÉTICOS DE LA RADIACIÓN. Después de publicado el trabajo de H. J. Muller en 1927, gracias a amplias investigaciones hechas por N. V. Timofeev-Resovski, M. Demerec, C. Stern, D. Lea, M. Delbruck, A. S. Serebrovski y otros en *Drosophila* primero y luego en otros objetos, fueron estudiadas las dependencias radiobiológicas principales en el fenómeno de las mutaciones inducidas. Se demostró que la frecuencia de mutación genética es directamente proporcional a la dosis de energía (fig. 233).

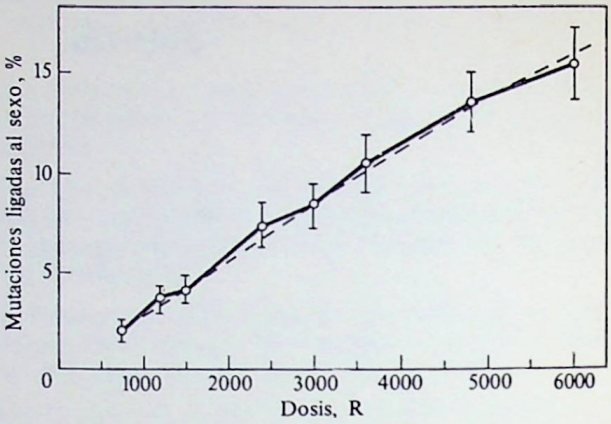


Fig. 233. Proporcionalidad directa entre la frecuencia de las mutaciones letales ligadas al sexo en *Drosophila melanogaster* y la dosis de rayos X (según N. B. Timofeev-Resovski)

La teoría del mecanismo del efecto biológico de la lesión radiactiva mucho le debe a Grouther, el cual en 1924 y 1938 introdujo la teoría del blanco, en otras palabras, volumen «sensible», cuya afección es causante del cambio de cierta reacción en la célula. Para el examen de este problema, un gran rol jugó el análisis cuantitativo de los efectos de la acción de diferentes dosis de radiación.

En el caso más simple, por la reacción a observar en la célula es responsable un blanco para dar en el cual se necesita un solo «impacto». En este caso, la cantidad de células afectadas crece exponencialmente. Nosotros obtenemos una curva para un solo impacto descrita por la fórmula $N/N_0 = 1 - e^{\alpha D}$, donde e es la base de los logaritmos naturales; N_0 es el número total de células; N es el número de células inactivadas; α, la probabilidad de inactivación por una célula; D es la dosis.

Con la condición de que en el blanco se da con cada impacto, la magnitud α en esta fórmula es igual al volumen del blanco. La curva de un solo impacto está relacionada con la dependencia directamente proporcional entre la cantidad de mutaciones y la dosis. En el caso, si para dar en el blanco en la célula hacen falta varios impactos, entonces la expresión de las curvas de dosis se dificulta. En este caso tendremos la curva en forma de S para muchos impactos.

La teoría del blanco relacionó la efectividad biológica de la radiación con las particularidades (microgeometría) de la distribución de la energía absorbida en el espacio de la célula. La magnitud de la pérdida de la energía por unidad de camino de una

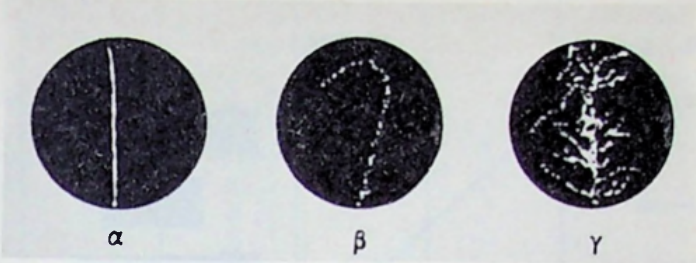


Fig. 234. Huellas que dejan los rayos α, β y γ en vapor sobresaturado de la cámara de Wilson (según J. Hoag)

partícula cargada es proporcional a su carga e inversamente proporcional a su velocidad. Para expresar la magnitud de la pérdida de energía por unidad de camino se ha introducido el término pérdida lineal de la energía (PLE).

El paso por la sustancia es muy distinto para diferentes tipos de radiaciones (fig. 234), con el cual están relacionadas las diferencias en su efecto genético. En estos casos, con una misma cantidad de energía absorbida, diferentes tipos de radiaciones ionizantes provocan una acción genética distinta. Si admitimos la efectividad genética de los rayos gamma por unidad, tendremos un término medio que los neutrones lentos resultan cinco veces más efectivos, las partículas alfa y los neutrones rápidos, 10 veces y los iones pesados, 20 veces. Sin embargo, para distintos organismos, tejidos y tipos de mutaciones la efectividad genética de distintos tipos de radiación puede ser diferente. Así tenemos que para algunos tipos de mutaciones en las plantas, los neutrones rápidos son 100 veces más efectivos que los rayos gamma.

La teoría del blanco jugó un gran rol en el desarrollo de los principios de la Genética de la radiación. Sin embargo, las investigaciones posteriores demostraron que no se podía identificar el hecho de la aparición de la mutación con el «acierto». El proceso de la mutagénesis inducida resultó ser muy complicado estando en la relación con el metabolismo celular. Ya que la mutación es un proceso químico en el cromosoma, este mismo, claro está, puede ser modificado mediante condiciones físicas y químicas en el momento de la irradiación y después de ésta. Un gran significado, en este aspecto, lo tuvo el descubrimiento del efecto del oxígeno sobre el transcurso de los procesos de la radiación en la célula. En estas mismas posibilidades radican los principios de la defensa química de la célula y los genes de las consecuencias dañinas de la irradiación.

Un gran papel desempeñan las particularidades evolutivas de los organismos que crearon diferentes sistemas moleculares

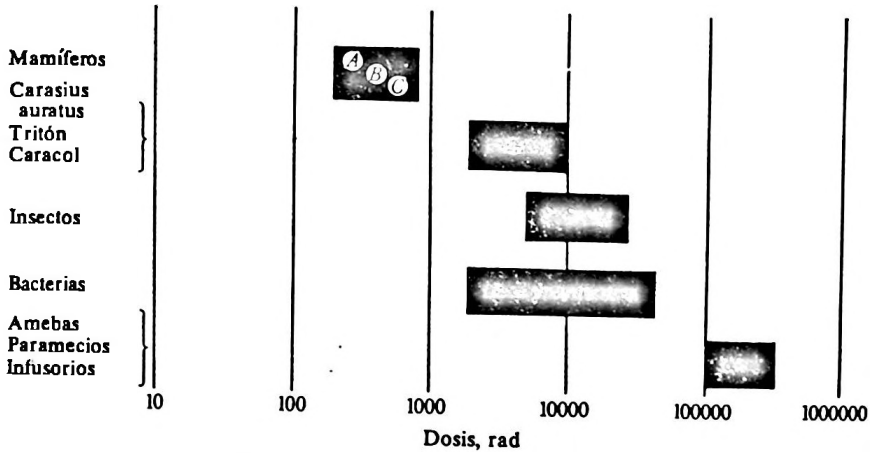


Fig. 235. Sensibilidad a la radiación de diferentes especies orgánicas

A — cobayo; *B* — hombre y *C* — ratón

bioquímicos naturales de defensa. Para el hombre, la dosis mortal es de 600 *rad*, para el ratón es de 900 *rad*, para la ameba de 100 000 *rad* y para una serie de bacterias es de hasta unos cuantos cientos de miles de *radies* (fig. 235).

De esta manera, el grado de afección del aparato genético con radiación se basa en tres procesos interrelacionados: a) en las propiedades físicas de distintos tipos de radiación ionizante que producen diferente microgeometría de energía en la célula y en primer lugar diferente PLE; b) en las condiciones del momento de la irradiación o después de éste; c) en las diferencias individuales, evolutivas y de especie en el sistema de la defensa natural.

DEPENDENCIA DE LA DOSIS Y PROBLEMA DEL UMBRAL EN CUANTO A LOS EFECTOS GENÉTICOS DE LA RADIACIÓN. Ya en los primeros experimentos con *Drosophila*, H. Muller (1927) estableció la dependencia lineal entre la aparición de las mutaciones letales ligadas al sexo y la dosis.

En 1948, J. H. Spencer y C. Stern plantearon experimentalmente el problema del umbral, habiendo estudiado en el mismo objeto la influencia de una amplia gama de dosis desde 25 *rad* hasta 3000 *rad*. Ellos encontraron que en todo este diapasón de dosis por cada 1000 *rad* (rayos X-90*kW*) aparece el 2,15% de letales (fig. 236). Con el proceso mutacional espontáneo aparece una mutación por cada mil gametos. La dosis de 50 *rad* duplica el proceso mutacional espontáneo. La dependencia rectilínea que une las dosis grandes con las pequeñas señalaba la ausencia de

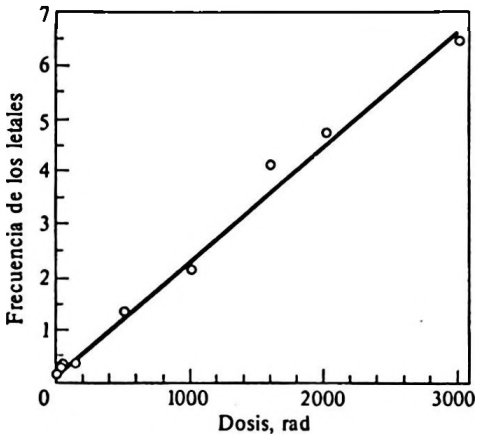


Fig. 236. Dependencia entre la frecuencia de las mutaciones recesivas letales ligadas al sexo y la dosis de radiación (según J. Spencer y C. Stern)

umbral de la dosis, es decir, por más pequeña que sea la dosis, durante su acción, la energía equivalente absorbida en la célula provocará la aparición de mutaciones.

Con el principio de la ausencia del umbral está relacionado el principio de la acumulación de mutaciones. Ya que las mutaciones aparecidas representan cambios estables en el cromosoma, por consiguiente, mediante la acción no simultánea de cualquier dosis de energía, el efecto de éstas, en un final, se acumula en forma de efecto sumario aditivo.

En 1962 y en los años posteriores, Ya. L. Glembotski obtuvo nuevos datos en los experimentos con *Drosophila*. Se demostró que mediante la radiación de las espermátidas con rayos gamma da una dosis de 20 *rad*, surgió $0{,}220 \pm 0{,}048\%$ de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo. Con cuatro radiaciones independientes de estas mismas células con dosis de 5 *rad* se obtuvo $0{,}210 \pm 0{,}048\%$ de mutaciones. De esta manera presenciamos el cuadro de acumulación completa de las mutaciones surgidas mediante la acción de dosis pequeñas en *Drosophila*. Este mismo principio fue confirmado por los experimentos de Ya. L. Glembotski con la radiación fraccionada de los neutrones a una dosis de 2,5 *rad*. En 1965, W. Baldwin, en los experimentos con la avispa *Dahlbominus* irradió a las hembras en la fase de larva con una dosis de 1000 *rad*, en un caso con la potencia de dosis de 1000 *rad/min*, y en otro con 0,17 *rad/min*. No se obtuvieron diferencias mediante tales regimenes distintos de irradiación. Esto demuestra que los efectos de pequeñas dosis, también en este caso, resultaron ser todos acumulados.

En los experimentos de H. Marcovich (1952), por algunos cambios en las bacterias se obtuvo una prueba directa de ausencia

del umbral de la dosis de radiación en la provocación de efectos genéticos. En este caso resultó ser efectivo la aparición en la célula de un par de iones.

La regularidad rectilínea caracteriza también algunas afecciones más complejas de las células. Así, al investigar 1200 personas, las cuales en condiciones terapéuticas eran sometidas a la radiación de la columna vertebral, se registró el padecimiento de leucemia. En este caso las dosis localmente suministradas alcanzaron 1200 *rad* e incluso un poco más. Se estableció que el número de casos de leucemia está en dependencia rectilínea de la dosis de energía (fig. 237).

Sin embargo, todos estos hechos carecen de base para la aplicación elemental de la teoría del blanco. Por su naturaleza, el problema de la afección del material genético por la radiación resultó ser complejo. Esto, en primer lugar, se debe a los hechos que demuestran la posibilidad de la sensibilización y la reparación en los procesos de realización de la mutagénesis.

El primer intento por explicar el mecanismo del origen de las aberraciones cromosómicas pertenecen a G. A. Levitski y A. G. Araratian (1932), quienes demostraron el hecho de la fragmentación de los cromosomas bajo la acción de los rayos X. En 1940, K. Sax descubrió en las microsporas de la *Tradescantia* que las deleciones terminales simples aumentan linealmente en dependencia del incremento de la dosis, fuera de la dependencia de su potencia (intensidad de la radiación) o del suministro de la dosis por partes separadas (fraccionamiento de la dosis). Lo

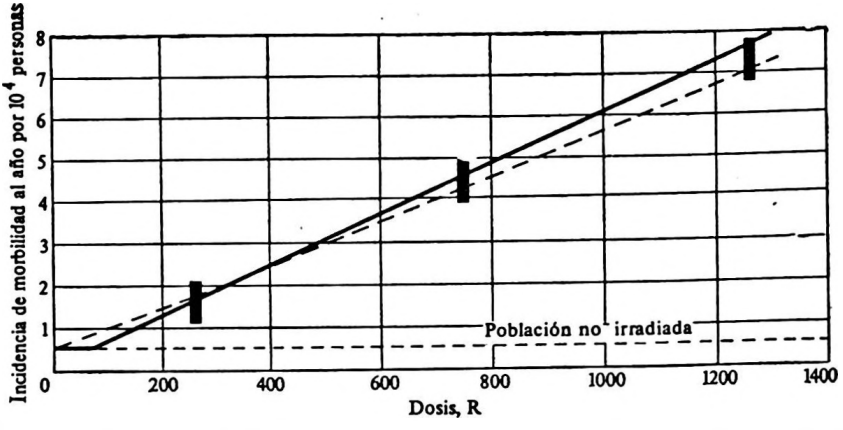


Fig. 237. Dependencia lineal entre el número de casos de leucemia y la dosis de rayos X, durante el proceso de radioterapia de los enfermos con espondilitis anquilipoyética

La aplicación local de la irradiación permitía el empleo de altas dosis, hasta 1200 rad

mismo fue demostrado para la aparición de las deleciones en los neuroblastos de los saltamontes (fig. 238).

Mediante las aberraciones de cambio, tales como las translocaciones cromosómicas y cromatídicas, y las inversiones, la aparición de la aberración se garantiza con la unión de fragmentos que surgen cuando tienen lugar las dos rupturas independientes. Si la aparición de cada una de las rupturas responde a cierta probabilidad p, entonces la coincidencia de las dos rupturas será igual

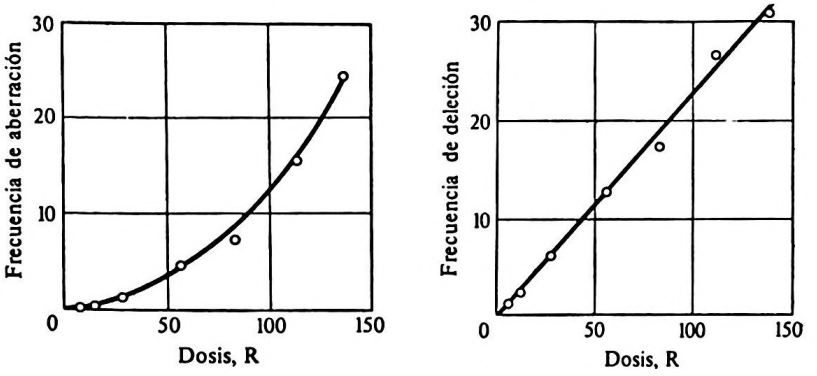


Fig. 238. Dependencia lineal según la dosis de rayos X de la frecuencia de ruptura aisladas en los cromosomas de los neuroblastos en los saltamontes

Fig. 239. Dependencia entre la frecuencia de los intercambios cromatídicos y la dosis de los rayos X en la *Tradescantia*

a la magnitud p^2. Esto demuestra que la aparición de las aberraciones de cambio de dos golpes debe aumentar proporcionalmente al cuadrado de la dosis.

En realidad, mediante la radiación singular con una dosis única, el rendimiento de las aberraciones de dos golpes es proporcional al cuadrado de la dosis (fig. 239). Esta dependencia se describe con la fórmula: $Y = \alpha D^2$, donde Y es el número de aberraciones, α es el coeficiente de la proporcionalidad de la dosis y D es la dosis.

Las investigaciones sobre el efecto de los neutrones rápidos (N. H. Giles, 1940) y sobre el efecto de las partículas alfa (J. P. Kotwal y otros 1947) descubrieron que en estos casos, las aberraciones de cambio se caracterizan por la dependencia rectilínea de la dosis (fig. 240). Esto demostró que con la acción de la radiación con un alto PLE, en los cambios intervienen sólo aquellos fragmentos que están al lado y que hayan surgido durante el paso de una partícula.

El análisis de la dependencia de la dosis mediante la provocación de aberraciones de cambio por los rayos X demostró la exis-

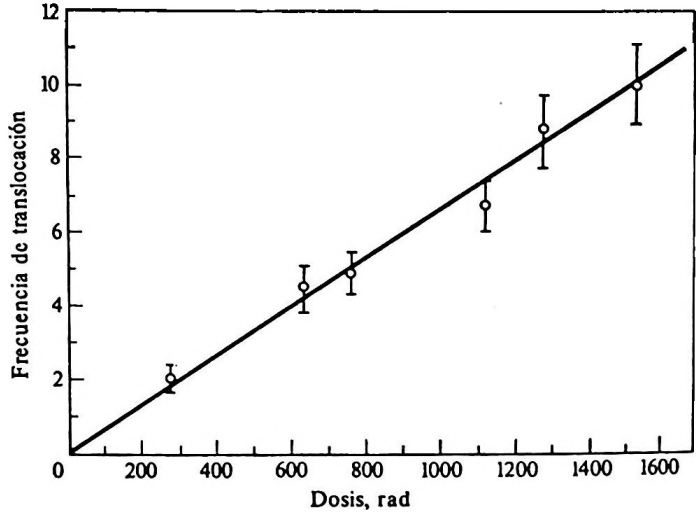


Fig. 240. Frecuencia de las translocaciones viables entre el segundo y tercer cromosoma en los espermatozoides de *Drosophila* en dependencia de la dosis de neutrones rápidos

Los segmentos verticales de las líneas señalan ± un errar estándar (según H. J. Muller)

tencia de alteraciones de su proporcionalidad al cuadrado de la dosis. Esta dependencia en algunos casos resultó estar relacionada con el coeficiente 3/2 (fig. 241), lo que señaló la aparición de las aberraciones, parte de las cuales surgía por el mecanismo de doble golpe y otra de uno solo.

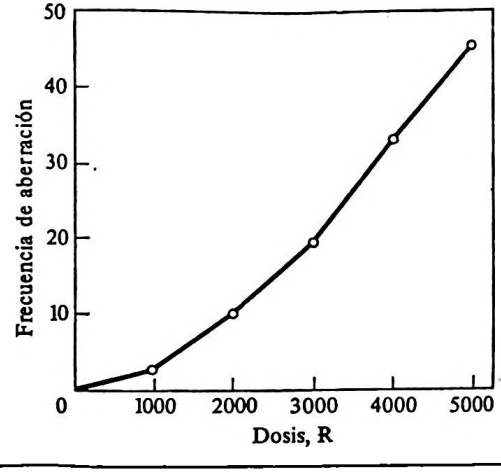


Fig. 241. Frecuencia de los tipos viables de aberraciones de los cromosomas en dependencia de la dosis de rayos X en la irradiación de los espermatozoides de *Drosophila* (según E. Baur)

En general, como demostró D. E. Lea (1942), tenemos una composición heterogénea de las aberraciones de los cromosomas, la cual se describe con la fórmula:

$$Y = K + aD + BD^2,$$

donde K representa la parte de las aberraciones que surgen como resultado del proceso mutacional espontáneo, a—la parte de las aberraciones, surgida por el mecanismo de un solo golpe, B—por el mecanismo de doble golpe. Según D. E. Lea (1942), la distancia en cuyos limites se realiza la unión de los fragmentos de acuerdo con datos obtenidos en la *Tradescantia*, en término medio es igual a 1μ. Según Wolff (1959), el cual comparó el número de aberraciones de intercambio producidas por los neutrones rápidos y los rayos X, en las células de los habones (*Vicia faba var. equina*), esta distancia es solamente de 0,1μ. Ya que los fragmentos de los cromosomas rotos se distribuyen en forma dispersa en la célula debido a las limitaciones espaciales, éstos, en la gran mayoría de los casos vuelven a unirse en el orden inicial. D. E. Lea (1942), D. G. Catcheside y otros (1946) demostraron que la cantidad de reuniones mediante la acción de los rayos X, neutrones rápidos y las partículas α es igual a 0,9, 0,9, 0,5, respectivamente. La duración de la vida de los fragmentos en las microsporas es de 20—30 minutos en la *Tradescantia*, (Wolff, 1958, I. S. Kirby-Smith y otros, 1958), de 1 a 4 horas en las células de los habones (Wolff y otros, 1956) y lo mismo para las radículas de la cebolla (N. S. Cohn, 1958).

En los espermatozoides de *Drosophila*, según datos de H. Muller (1940) las rupturas quedan abiertas días y meses, uniéndose sólo después de la introducción del espermatozoide en el óvulo durante la fecundación. Según D. R. Parker (1958), en los ovocitos de *Drosophila* la duración de la vida de los fragmentos depende de la fase de su desarrollo. En los ovocitos jóvenes ésta es de 10 minutos.

En 1964, M. I. Evans y sus colaboradores elaboraron un nuevo método citológico para el análisis de las metafases meióticas, lo que permitía observar el efecto directo de la radiación incluso en la primera mitosis después de la radiación. Se demostró que con el método ordinario del análisis genético, la cantidad de translocaciones en los ratones resultaba ser dos veces menos. De esta manera, los procesos de selección y restituciones tergiversan el cuadro real de los efectos primarios.

En los años 1967, 1968, A. Leonard y Gh. Deknudt, empleando el método del análisis de las metafases de la meiosis, obtuvieron una nueva dependencia de translocaciones en los espermatogonios de los ratones, descubriendo inesperadamente un aumento lineal de la frecuencia de translocaciones dentro de los límites de las dosis de 25 a 600 *r*.

FENÓMENO DEL MÁXIMO DE LAS MUTACIONES INDUCIDAS POR RADIACIÓN. DOSIS Y CALIDAD DE LAS MUTACIONES. DOSIS Y CANTIDAD RELATIVA DE MUTACIONES. En 1939 C. W. Emmons y A. Hollaender descubrieron en unos experimentos con la radiación ultravioleta, que con el aumento de la dosis, la curva de la relación entre el número de mutaciones y el número de células sobrevivientes primeramente crece, alcanza la cima y luego empieza a decaer. Este fenómeno de máximo de las mutaciones para dosis determinadas luego fue establecido para muchos organismos inferiores y también para los superiores.

Para la explicación de este fenómeno complejo se han presentado muchas hipótesis. Mencionemos que W. L. Russel y A. E. Russel (1959) estiman que entre la mutabilidad y la radiorresistencia existe una correlación positiva. Como resultado, con el aumento de la dosis mueren las células más mutables. En la radiación con neutrones se demostró que con dosis más altas se observa una visible disminución de la frecuencia de mutación a causa de la muerte selectiva de las células en las mutaciones (A. G. Searle, 1967).

En los experimentos de mutagénesis de la radiación en *E. coli*, el fago *T4* y la *Neurospora* se han dado, en los últimos años, demostraciones directas de que las radiaciones ionizantes pueden provocar mutaciones puntuales. Al mismo tiempo, se descubrió la aparición de deleciones multiloci. B. B. Webber y F. I. de Serres (1965) demostraron que el número de mutaciones puntuales crece en dependencia lineal de la dosis de la radiación X y el número de deleciones intragénicas aumenta proporcionalmente al cuadrado de la dosis. Con esto fue descubierto que la específica del espectro de las mutaciones depende de la dosis. Con la acción de pequeñas dosis, casi todas las mutaciones resultan puntuales. Así tenemos que para la *Neurospora*, con la acción de 1000 *rad* el 97% de todas las mutaciones están relacionadas con las sustituciones de determinados nucleótidos. Con el aumento de la dosis empiezan a aparecer aberraciones de doble golpe (deleciones), de manera que a dosis elevadas se tiene una mezcla de dos tipos de mutaciones.

De Serres y otros (1967) demostraron en la *Neurospora* que la disminución de la dosis de 1000 hasta 10 *rad/min.* conlleva a la reducción del número de aberraciones de doble golpe. En estas mismas condiciones, la aparición de mutaciones puntuales no mostró la dependencia de los cambios en la potencia de la dosis.

En 1965 Russell y Kelly demostraron que al someter las hembras del ratón a la radiación a una dosis de 50 *rad* con una potencia de 90 *rad/min*, es decir, mediante una radiación aguda a una dosis pequeña, en la descendencia compuesta por 127 391 ratones surgieron 10 mutaciones.

Al hacer la extrapolación, partiendo de la frecuencia de las mutaciones obtenidas a una dosis de 400 *rad*, en este experimento se esperaban 25 mutaciones. En 1966 Russel y Kelly informaron sobre el resultado del efecto de la dosis fraccionada, con el cual los ratones hembras recibieron una dosis de 400 *rad* de una potencia de 90 *rad* por minuto en forma fraccionada de 50 *rad* con un intervalo de 75 minutos entre cada una. En este caso, por cada 23 387 descendientes se esperaban 34 mutaciones, pero sólo se obtuvieron 13. De esta forma, a dosis pequeñas, la frecuencia relativa de mutación por unidad de dosis es menor. Russell considera que en este caso, los procesos de reparaciones transcurren con efectividad.

MODIFICACIÓN DE LOS EFECTOS RADIOGÉNICOS. La teoría general de las mutaciones sufrió muchos cambios cuando se descubrió el hecho de que las mutaciones en los cromosomas no son un acto momentáneo irreversible. Primeramente las mutaciones aparecen en forma de cambios potenciales, cuya realización en las mutaciones reales puede ser modificada en el momento y a veces también después de la acción de la radiación.

La vieja concepción, basada en la aplicación directa de la teoría del blanco, consideraba que la mutación surge en seguida a raíz del efecto de un impacto. Desde este punto de vista, inmediatamente las mutaciones intervienen como transformaciones irreversibles produciendo estados isoméricos de las moléculas-genes.

Ahora la situación cambió. Se ha demostrado que los procesos del surgimiento de las mutaciones transcurren como transformaciones químicas de radiación complejas en el cromosoma, para cuya realización se requiere cierto tiempo.

Hace tiempo se conoce que la presencia de oxígeno intensifica el efecto radiobiológico (T. F. Anderson, 1941). En 1949 J. M. Thoday y J. Read descubrieron que en las radículas de los habones la frecuencia de las aberraciones cromosómicas en la atmósfera de oxígeno es tres veces mayor que en la de nitrógeno. En 1952, H. D. Riley y otros demostraron que la presencia de oxígeno influye de manera diferencial sobre distintos tipos de aberraciones de los cromosomas. R. Swanson (1946), utilizando los datos de la influencia del oxígeno, enunció la idea sobre los cambios potenciales como los antecesores de las roturas propiamente dichas. Las condiciones para que aparezcan las aberraciones de los cromosomas, desde este punto de vista, se crean sólo después de que los cambios potenciales se convierten en roturas auténticas de los cromosomas.

Sobre la existencia de afecciones potenciales en los cromosomas atestiguaban también los hechos que demostraban que la luz infrarroja modifica la influencia de la radiación (L. Kaufmann y otros, 1946). H. T. Yost (1951) demostró en su trabajo que al

irradiar las microsporas de la *Tradescantia*, cuyas células se encontraban en la fase G_1, su tratamiento posterior con rayos infrarrojos al cabo de 96 horas conllevó al aumento de la cantidad de aberraciones cromosómicas. La posibilidad de cambiar los efectos mutagénicos de las radiaciones ionizantes en el período posterior a la irradiación, mediante el tratamiento de las células con compuestos químicos determinados, fue demostrada por A. Hollaender y otros en 1956 en experimentos con bacterias.

En las formas superiores, la posibilidad de reparaciones de mutaciones génicas, provocadas por radiaciones ionizantes fue demostrada con mucha evidencia por F. H. Sobels (1960) en los experimentos con *Drosophila* y por R. F. Kimball (1963) en las investigaciones con los paramecios. Según Sobels, después del tratamiento con la radiación de las espermátides de *Drosophila*, su colocación a la atmósfera de nitrógeno reprime los procesos de la respiración de oxidación. En estas condiciones, la cantidad de mutaciones génicas aumenta. De esta forma, la alteración del metabolismo conlleva a una conversión más fácil de los cambios potenciales en mutaciones. Con el tratamiento de las células radiactivas con cloranfenicol o ribonucleasa, la cantidad de mutaciones disminuye. Estos factores alargan los procesos de desarrollo del individuo, lo que da la posibilidad de una mayor realización para los procesos de restitución natural de los cambios génicos potenciales. Con el suministro de oxígeno, la frecuencia de mutación disminuye posiblemente a consecuencia de que el oxígeno restablece el sistema defensivo sensible al oxígeno, alterado en la célula bajo la acción de la radiación. Kimball (1963) demostró que en los paramecios, el tratamiento posterior a la radiación con estreptomicina, cloranfenicol, cafeína, dinitrofenol y baja temperatura, disminuye el rendimiento de las mutaciones. Característica general para todos estos factores es la represión de la síntesis DNA. El momento de la autorreproducción de los cromosomas en este caso es decisivo. Todos los cambios potenciales que no tuvieron tiempo de restablecerse para el momento de la autorreproducción, en este proceso se convierten en mutaciones verdaderas. La radiación de los paramecios en distintas fases del ciclo celular produce un rendimiento diferente de mutaciones. Cuanto más apartada esté el tratamiento con la radiación de la síntesis del DNA, tanto menor es el número de mutaciones que surgen a una misma dosis de radiación. Cierta cantidad de mutaciones ha aparecido en los ciliados independientemente de la reproducción de los cromosomas. En los paramecios, los procesos de restablecimiento se observaron después de que estos fueron irradiados con rayos X, partículas alfa, luz ultravioleta (2537 Å) y también a raíz del tratamiento con compuestos alquilados—iperitas nitrogenadas y trietilenmelamina.

Todos estos datos demostraron que los procesos que conllevan a la aparición de las mutaciones son reversibles. Existe un espacio

de tiempo determinado entre el acto de absorción de energía de radiación por parte del cromosoma y la culminación de los procesos que pueden conducir al surgimiento de mutaciones o a su reparación, por medio del restablecimiento de la estructura inicial. Al investigar los procesos de restitución de las rupturas de los cromosomas, producidos por la radiación, Wolff y Atwood, en 1954, señalaron por primera vez la existencia del sistema de restablecimiento en la célula.

El nuevo enfoque en el estudio de la naturaleza del sistema de restablecimiento, fue realizado en la Genética de las bacterias. Se descubrieron dos tipos de enzimas que desempeñan el papel de sistema de restablecimiento. Al tratar las bacterias con luz ultravioleta, en el DNA de las bacterias surgen dímeros de timina. Wolff y Rupert (1962) encontraron enzima, las cuales disocian los dímeros de timina. Ya que las enzimas se activan con luz, surge el cuadro de la fotorreactivación. R. B. Setlow y otros (1964) hallaron el segundo tipo de enzima, cuya acción es independiente de la luz. Esta enzima en la oscuridad elimina los dímeros de timina restableciendo la estructura inicial del DNA. Tal enzima fue aislada en las bacterias. Ambos tipos de enzimas se controlan genéticamente. La aparición de mutantes radiosensibles está relacionada con las mutaciones de los genes que bloquean la formación de la primera o la segunda enzima.

EFECTO GENÉTICO DE LA POTENCIA Y FRACCIONAMIENTO DE LA DOSIS. La cuestión sobre el rol de la potencia de la dosis fue investigado primeramente en las aberraciones provocadas por radiación de los cromosomas. La duración de la vida de los fragmentos, es decir, su capacidad para las uniones, es limitada. Esto demuestra que cuando la cantidad conocida de rupturas aparece inmediatamente después de una sola aplicación de la radiación, la probabilidad para sus conversiones en aberraciones de cambio es mayor que en el caso de suministro de la misma dosis por partes con intervalos de tiempo que superan el lapso de vida de los fragmentos.

De esta manera, al tener en cuenta el carácter de doble impacto de las aberraciones de cambio de los cromosomas y la limitación de tiempo de la vida de los fragmentos, fue creada la teoría que permitía comprender la influencia de los cambios en la potencia y el rol del fraccionamiento de la dosis sobre el rendimiento de este tipo de mutaciones. La influencia de estos factores sobre los procesos de surgimiento de las mutaciones génicas fue largo tiempo rechazada. Desde las viejas posiciones de la teoría del blanco, las mutaciones génicas se contemplaban como acontecimientos de un impacto, por eso se opinaba que el cambio de la potencia de la dosis y su fraccionamiento no pueden reflejarse en la cantidad de mutaciones.

Sin embargo, a la luz de nuevas hipótesis sobre la posibilidad de procesos de reparación de las mutaciones génicas se modifican las mismas bases de la comprensión de la naturaleza de los fenómenos de las mutaciones. Estas nuevas ideas, teniendo en cuenta la posibilidad de la acción de la radiación sobre el metabolismo celular, con lo que cambia el proceso de formación de las mutaciones, hacen presuponer la posibilidad de la influencia del régimen de radiación sobre los procesos de mutaciones génicas.

Lo primeros datos sobre la influencia de la potencia de la dosis sobre la cantidad de mutaciones génicas inducidas por la radiación de los espermatogonios de los ratones fueron obtenidos por W. Russel y otros en 1958. Se estudió la frecuencia de la aparición de mutaciones visibles en siete loci al aplicar la radiación a dosis de 300 y 600 *rad* en condiciones de diferentes regímenes (tabla 20).

Tabla 20

Potencia de la dosis y cantidad de mutaciones en siete loci al aplicar la radiación de espermatogonios y ovocitos de ratones adultos

Datos sobre radiación			Cantidad de individuos de primera generación	Número de mutaciones detectadas	Número de mutaciones en locus por cada 100 000 gametos
fuente de radiación	dosis total, *rad*	potencia de la dosis, *rad/min*			
		Espermatogonios			
Rayos X	300	80—90	65,548	40	8,7
Rayos X	600	80—90	119,326	111	13,3
Rayos X	600	60—70	10,761	11	14,6
Co^{60}	600	24	44,352	33	10,6
Rayos X	600	9	40,326	23	8,1
Co^{137}	600	0,8	28,059	10	5,1
Co^{137}	300	0,009	58,457	10	2,4
Co^{137}	516	0,009	26,325	5	2,7
Co^{137}	861	0,009	24,281	12	7,1
Co^{60}	603	0,007—0,009	10,763	2	2,7
Co^{137}	86	0,001	59,810	6	1,4
Co^{137}	300	0,001	49,569	15	4,3
Co^{137}	600	0,001	31,652	13	5,9
Neutrones de división	63	0,17	18,194	13	10,2
Neutrones de división	59	0,79	17,041	12	10,1
Neutrones de división	59	79	16,758	10	8,5
Control	—	—	531,500	28	0,8
		Ovocitos			
Rayos X	400	90	11,124	15	19,3
Co^{137}	400	0,8	20,827	7	4,8
Co^{60}	600	0,05	10,117	1	1,4
Co^{137}	400	0,009	37,049	2	0,8
Co^{137}	258	0,009	27,174	1	0,5
Control	—	—	98,828	1	0.14

Los datos de la tabla demuestran que cuando la dosis 300 y 600 *rad* se suministraban con una potencia de 0,009 *rad/min*, la cantidad de mutaciones aparecidas era 4 veces menor que con las mismas dosis aplicadas con una potencia de 90 *rad/min*. En el primer caso la dosis de 600 *rad* se suministró en 7 minutos, en el segundo, en 9504 minutos. El hecho de la disminución del número de las mutaciones al suministrar la energía con menor potencia permitió llegar a la conclusión de que con la acción de pequeñas dosis en la célula se crean tales condiciones en las cuales los cambios potenciales en los cromosomas producidos por la radiación se restablecen mucho más fácil en comparación con las afecciones que surgen mediante la acción de altas dosis. Estas condiciones pueden estar relacionadas con el hecho de que las dosis elevadas afectan el sistema de restablecimiento debido a que una mayor parte de los cambios potenciales se transforman en mutaciones. El suministro de pequeñas dosis, hace que el trabajo del sistema no afectado de restablecimiento conlleva a la reparación de un número considerable de cambios potenciales. Otra explicación que puede darse sobre el efecto observado es que con la prolongación del tiempo de tratamiento el sistema de restablecimiento conseguía reparar mucho más afecciones potenciales que no tuvieron tiempo de convertirse en afecciones mutacionales.

El estudio de la mutabilidad espontánea en los ratones hembras demostró que en los ovocitos ésta es menor que en los espermatogonios de los machos. Así tenemos que entre 544 897 machos fueron descubiertas 32 mutaciones, es decir $0{,}84 \times 10^{-5}$ por locus. Entre 98 828 hembras se encontró una mutación, es decir, $0{,}14 \times \times 10^{-5}$ por locus.

Además de una menor mutabilidad espontánea en los ovocitos, las hembras demostraron la presencia de un sistema más efectivo de restablecimiento después de la radiación (Russel, 1965). En este caso, debido a una mayor lesión del sistema de restablecimiento a altas dosis y una mayor potencia de este sistema en las células normales, así como en las células irradiales a pequeñas dosis, en los ovocitos, con una baja intensidad de radiación, el rendimiento de las mutaciones disminuye no 4 veces como es característico para los espermatogonios, sino 24 veces.

Después que se descubrió en los ratones el hecho de que la frecuencia de las mutaciones génicas disminuye con la disminución de la potencia de la dosis, este fenómeno fue corroborado por Oster y otros (1959); por Muller y coautores (1963) en los experimentos con *Drosophila*; por Tazima y colaboradores (1961) al irradiar las larvas del gusano de seda; por Baldwin (1965) en los experimentos con la avispa *Dahlbominus*. La respuesta precisa en cuanto a la disminución del número de mutaciones mediante la reducción de la potencia de la dosis en los experimentos con el gusano de seda fue obtenida con la radiación de las orugas que

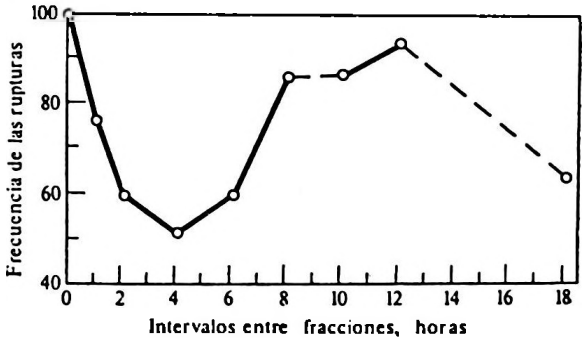


Fig. 242. Frecuencia de las rupturas en la irradiación fraccionada con distintos intervalos entre las fracciones (según G. R. Lane)

acababan de salir del huevo. Sin embargo, con la radiación de orugas de 1—8 días de vida fue establecida la dependencia inversa, en este caso, la exposición crónica de un mayor rendimiento de mutaciones en comparación con la aguda. El análisis citológico, llevado a cabo en 1968 por Tazima y sus colaboradores, demostró que en caso de radiación crónica se acumulan células en la fase G_2, las cuales manifiestan una mayor radiosensibilidad. Estos datos demuestran con qué cuidado hay que interpretar los hechos referentes a la dependencia del efecto de la radiación.

Las nociones sobre el rol del fraccionamiento cambiaron también en los últimos años. En este sentido constituyó un viraje el trabajo de Lane (1951). Lane descubrió dos nuevos factores principales. En sus experimentos, las rupturas quedaban abiertas por el transcurso de 8 horas, con la particularidad de que la primera dosis de radiación provocaba una compleja reacción de los cromosomas a segunda aplicación (fig. 242). En estos experimentos sometiendo a la radiación a dosis de 180 + 180 *rad* con intervalos entre ellas de 4 horas, en comparación con la acción de una sola dosis de 360 *rad*, la cantidad de rupturas de los cromosomas por célula disminuyó dos veces. Sin embargo, con el aumento del intervalo hasta 8—12 horas, la cantidad de rupturas aumentó, componiendo hasta el 95% de su número alcanzado con el incremento anterior. El aumento posterior del intervalo entre las exposiciones hasta 18 horas redujo la cantidad de rupturas hasta el 65%. Es interesante el descubrimiento hecho por Devies y Wall (1961), quienes demostraron en los experimentos de las mutaciones somáticas en el trebol que las dosis pequeñas (5. 12, 25 y 50 *rad*) reducen el efecto dañino en 2000 *rad* si la primera dosis se suministrara en las condiciones del oxígeno.

En todos los fenómenos nos encontramos, por lo visto, con la acción de las dosis primarias sobre algunos sistemas metabólicos

en la célula, lo que se refleja en sentido positivo o negativo en el proceso de formación de las mutaciones al recibir la segunda dosis de radiación. N. V. Luchnik (1963), en los experimentos de irradiación de las radículas del guisante demostró la existencia del restablecimiento de las rupturas de los cromosomas, que está en directa relación con el tiempo desde el momento de la exposición hasta la síntesis del DNA. Al mismo tiempo se señaló que aquí en varios casos ocurre un cambio en la distribución de la afección en las células. Según la opinión de N. V. Luchnik, la causa de ello radica en que el restablecimiento no ocurre para determinadas lesiones cromosómicas, sino que al nivel de la célula entera. Las células restituyen, o bien todas sus afecciones o ninguna. Una parte de semejante restablecimiento a nivel celular depende de la dosis de la radiación y de otros factores.

Para la comprensión del papel del sistema del restablecimiento es importante el análisis de la defensa química a distintas dosis. N. P. Dubinin y L. G. Dubinina (1964) demostraron en experimentos con un cultivo de fibroblastos embrionarios humanos, que a una dosis de 50 y 100 *rad* de radiación gamma está expresado suficientemente bien el efecto defensor de la serotonina, AET y la estreptomicina, los cuales en un 30—40% redujeron el número de aberraciones cromosómicas. Sin embargo, al recibir la radiación a una dosis de 25 *rad*, esos mismos protectores no ejercieron su acción defensora. Explicar estos hechos desde el punto de vista de la interacción directa del protector químico con las afecciones del cromosoma se hace imposible. Lo dicho sirvió de motivo para que este fenómeno comprendido en el sentido de que los protectores químicos defienden el sistema restablecedor intracelular, el cual de por sí es sensible a la radiación. Las lesiones de este sistema se diferencian por su característica de muchos golpes, por eso éste no se afecta con una dosis de 25 *rad* pero sí con 50 y 100 *rad*. El sistema restablecedor, no afectado por la radiación de una dosis de 25 *rad* no sufre la influencia del protector y por eso no hay defensa contra la afección de los cromosomas.

PROBLEMA DE LAS DOSIS PEQUEÑAS. Para valorar los efectos genéticos de las dosis pequeñas es importante la cuestión sobre la disminución relativa del número de mutaciones con una potencia pequeña. La acción de las dosis pequeñas en condiciones del fondo moderno, realmente se realiza con suministro de energía de poca intensidad. Si el proceso de reparaciones de las mutaciones genéticas ocurre en forma intensiva, entonces, puede ser, la influencia de las dosis pequeñas de radiación completamente se anula por el trabajo del sistema intracelular de restablecimiento.

El análisis de los hechos obtenidos en esta esfera demuestra que esto no tiene lugar. En todos los casos queda una parte determinada no reparada de las mutaciones provocadas en condi-

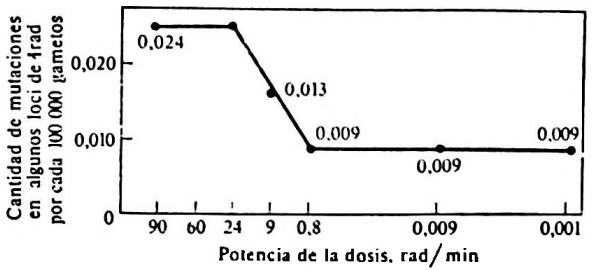


Fig. 243. Afección del sistema de restablecimiento en los espermatogonios del ratón en los casos de la irradiación con diferente potencia

ciones de una dosis de pequeña potencia. Así, el análisis de los datos de la tabla 20, en los experimentos con los ratones llevados a cabo por Russell y sus colaboradores demostró las dependencias totalmente características en el crecimiento del nivel de la mutabilidad con potencias pequeñas de dosis y la presencia, entre las mutaciones de componente no reparado. En la fig. 243 se ve que dentro de los límites de las potencias de dosis entre 90, 60 y 24 *rad* por minuto, el número de mutaciones por locus por 1 *rad* queda en un mismo nivel. La dosis de 9 *rad* representa punto de cambio, en el cual se observa la disminución del número de mutaciones. A una dosis de 0,8 *rad* esta reducción alcanza su límite. Aquí la frecuencia de mutación por cada 1 *rad* es igual a 0,008. Luego, con la consiguiente gran disminución de la potencia de la dosis, no se produce ningún aumento en la efectividad de las reparaciones. Por lo visto, sobre la base de estas regularidades está el cambio del sistema restablecedor radiosensible. A dosis de 90, 60, 24 *rad/min* estos sistemas casi en la misma medida se afectan, por eso el número de mutaciones es alto. Con 9 *rad/min* esta afección tiene un carácter intermedio. A partir de la dosis 0,8 *rad/min* ya no hay lesión del sistema. Aquí se manifiesta al máximo el trabajo del sistema de restablecimiento y naturalmente este ya no cambia con todas las demás potencias bajas. El trabajo de este sistema no es suficiente para el restablecimiento de todas las mutaciones. Como resultado tenemos el componente no reparable de las mutaciones a cualquier dosis pequeña.

Todo esto demuestra que el descubrimiento del sumamente importante rol de la potencia de la dosis en el efecto genético de la radiación no lo suprime ni el principio de la ausencia del umbral ni el principio de la acumulación de los efectos genéticos mediante la acción de dosis pequeñas. Es imprescindible solamente introducir un coeficiente corrector según el nivel de mutabilidad por unidad de radiación al comparar los efectos genéticos obtenidos con la acción de dosis altas y pequeñas. Como fue demostrado

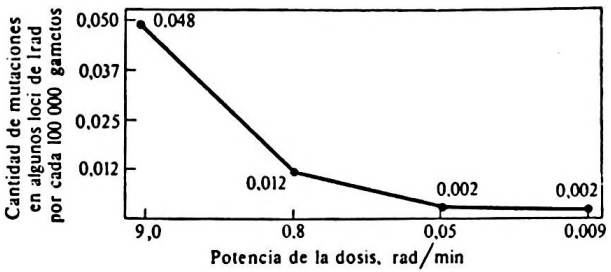


Fig. 244. Afección del sistema de restablecimiento en los ovocitos del ratón en los casos de la irradiación con diferente potencia

ya anteriormente, en caso de radiación de los espermatogonios de los ratones, este coeficiente corrector es igual a 4. Este coeficiente resulta diferente para distintos tejidos y para diferentes organismos. Antes, en el ejemplo de los ovocitos del ratón, se demostró que en este caso el coeficiente corrector era igual a 24. Sin embargo, aquí también es evidente la existencia del componente no reparable en la mutabilidad y a la vista está la misma dependencia de la afección del sistema restablecedor (fig. 244) la que antes fue descrita para los espermatogonios.

Muller y sus colaboradores (1963), al irradiar las ovogonias de *Drosophilas* también demostraron el hecho de la disminución del número de mutaciones a pequeñas potencias de dosis. Sin embargo, en este caso el coeficiente corrector fue mucho menor, igualándose solamente al 30%. La fig. 245 muestra que también en este caso, después de pasada la dosis crítica (2 *rad/min*), la consiguiente disminución de la dosis hasta 0,025 *rad/min* ya no ejercía ninguna influencia sobre el rendimiento de las mutaciones.

Finalmente cabe señalar que bajo determinadas condiciones intracelulares, la potencia no ejerce en absoluto influencia sobre el rendimiento de las mutaciones. Un ejemplo claro de este tipo lo tenemos en el caso de la obtención de mutaciones somáticas

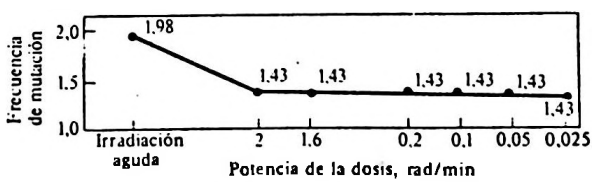


Fig. 245. Afección del sistema de restablecimiento en las ovogonias de *Drosophila* para los casos de la irradiación con diferente potencia

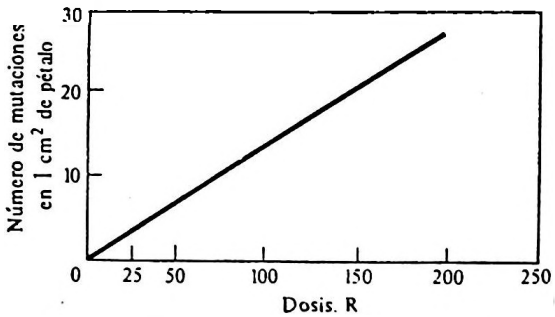


Fig. 246. Dependencia rectilínea entre la dosis y la frecuencia de mutaciones somáticas en el tabaco

en el tabaco. Se estudiaron las mutaciones del gene *P*, las cuales privaban de coloración aquellas partes en la flor donde surgían mutaciones. Una misma dosis para diferentes grupos de plantas se suministraba con diferente intensidad. En el transcurso del día, en 20 horas las plantas recibían 1,24; 2,50; 5; 10; 25; 50; 100 y 200 *rad*. En la fig. 246 vemos que la dependencia del número de mutaciones según la dosis tiene una clara dependencia rectilínea.

SOBRE LA EFICACIA BIOLÓGICA RELATIVA (EBR) DE LOS DIFERENTES TIPOS DE RADIACIONES. En aspecto general, la EBR de un tipo de radiación en comparación con otro se califica como una relación inversa de las dosis correspondientes, necesarias para producir el mismo efecto. La EBR en primer lugar, depende de la velocidad de la pérdida lineal de energía (PLE), propia del tipo dado de radiación. La magnitud de la pérdida de energía de una partícula a lo largo de su pista es proporcional al cuadrado de la carga e inversamente proporcional a su velocidad. La velocidad de la partícula disminuye al final de su recorrído, por eso tiene lugar la mayor pérdida de energía. Para los rayos gamma y los rayos X, la capacidad de provocar aberraciones de los cromosomas es propia de «las colas» en las pistas de los electrones secundarios donde la densidad de ionización es sumamente alta. Según cálculos de Lea y Catcheside (1942), para romper el filamento cromosómico de 0,1 μ son imprescindibles 15—20 ionizaciones. Para todas estas categorías de cambios genéticos, incluyendo también las aberraciones de los cromosomas, generalmente la EBR crece a medida que aumenta PLE.

La solución de la cuestión sobre la eficacia biológica relativa con diferente PLE se dificulta porque la acción de las radiaciones puede depender de las condiciones en el momento e incluso después de la radiación. Unos de los factores importantes es la in-

fluencia del oxígeno. La efectividad genética de las radiaciones fuertemente ionizantes, tales como las partículas alfa, casi no dependen de la intensidad del oxígeno en la célula. En lo que respecta a las radiaciones raramente ionizantes (rayos gamma, rayos X) su efecto muestra una fuerte dependencia de la presencia o ausencia del oxígeno.

A. Conger (1956) igualó la EBR de los neutrones rápidos y los rayos X sobre los cromosomas en las células de la ascitis de Ehrlich de los ratones. Con la presencia del oxígeno, la habida efectividad de las radiaciones se igualó a 2,5 y a 1 respectivamente. Con la radiación en la atmósfera de nitrógeno esta correlación de eficacia tenía la forma de 6 y 1.

H. J. Evans y otros (1959) demostraron en las células de los habones que la afección de los cromosomas por los neutrones y los rayos gamma representa 10,5 y 1, respectivamente. Con la ausencia de oxígeno ésta se igualó a 18 y a 1.

La magnitud de la EBR debe crecer a medida que aumenta la PLE hasta cierto máximo, después PLE será tan grande que parte de la energía, al encontrarse con el cromosoma, ya no se aprovecha y de esta forma la EBR comienza a disminuir. Conger y otros (1958) demostraron en las aberraciones cromosómicas y cromatídicas en la *Tradescantia* que en este caso el máximo de EBR se caracteriza por PLE con valor medio alrededor de 6 *KeV*/μ. En las plantas, la magnitud de EBR puede llegar a 100.

En 1953 J. S. Kirby-Smith y Daniels, en los experimentos con la *Tradescantia* determinaron la disminución total de la cantidad de aberraciones cromosómicas en un 50% en comparación con los rayos X.

En las células humanas del cultivo del tejido se demostró (Dubinin, Dubinina, 1965) que el efecto de los rayos gamma para todas las fases del ciclo celular provoca aberraciones cromosómicas aproximadamente en un 50% menos que en comparación con los rayos X.

En los experimentos con ratones se demostró que para las mutaciones visibles, la EBR de los neutrones, en comparación con la radiación X, es igual a 6—65. Para los espermatogonios el valor de EBR después de aplicada una aguda radiación X es igual a 5—6, y después de una crónica 17—18. Para los letales dominantes la EBR es igual a 6 (Russel, 1965 y Searle, 1967).

MODIFICADORES DE LOS EFECTOS GENÉTICOS DE LA RADIACIÓN. De esta forma, los factores fundamentales de la afección por radiación son: 1) la dosis, la velocidad con que se obtiene (potencia de la dosis) y el fraccionamiento de la dosis, 2) tipo de radiaciones ionizantes y 3) reversibilidad de la afección genética.

Entre los factores del medio que alteran la fuerza de la acción de las radiaciones ionizantes, el primer lugar lo ocupa el

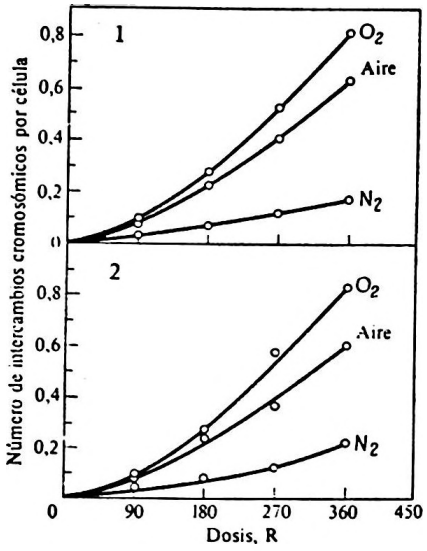


Fig. 247. Frecuencia de las aberraciones de los cromosomas en las microsporas de la *Tradescantia* inducidas por irradiación con rayos X a distintas dosis y en diferentes condiciones atmosféricas

1—dicéntricos y anillos céntricos; *2*—deleciones intersticiales (según N. H. Giles y H. P. Riley)

llamado efecto del oxígeno. La presencia de oxígeno, como regla, hace aumentar considerablemente el efecto genético de los rayos gamma y rayos X. Con la expulsión del oxígeno baja la radiosensibilidad de la célula viva (véase fig. 247). A medida que aumenta la densidad lineal de la energía de las radiaciones, disminuye la dependencia del efecto genético del oxígeno (véase fig. 248).

El efecto genético de las radiaciones ionizantes se intensifica a temperaturas bajas. Al preceder al influjo de los rayos ionizantes, la radiación infrarroja también acelera su efecto genético. La

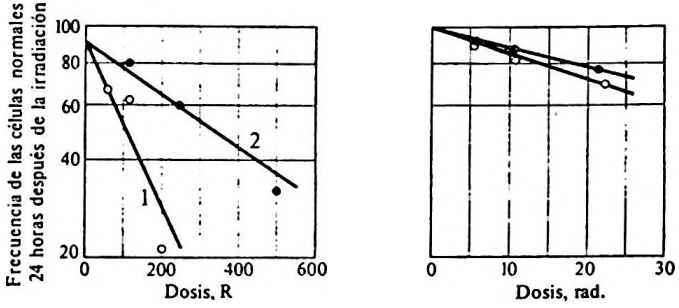


Fig. 248. Influencia de la irradiación con rayos X (en *r*) y con neutrones (en *rad*) a distintas dosis sobre las células tumorales (ascíticas) de los ratones en el aire (*1*) y en el nitrógeno (*2*)

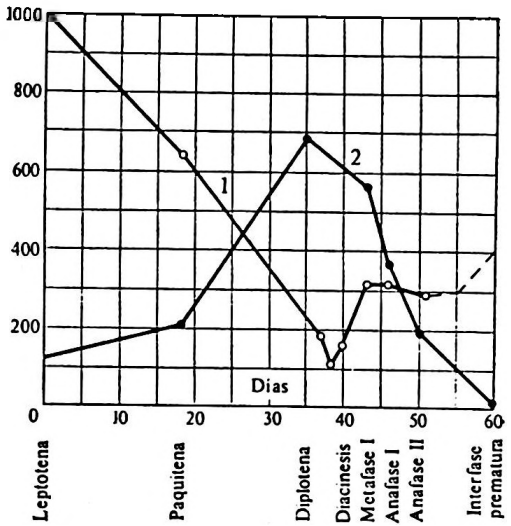


Fig. 249. Dependencia inversa entre la sensibilidad a la acción de la radiación y la longitud de los cromosomas en las distintas fases de la microsporogénesis en *Trillium erectum*

La sensibilidad se mide como función del número de fragmentos cromosómicos por 100 granos de polen maternos. Toda la meiosis dura alrededor de dos meses (según A. H. Sparrow) *1*—longitud del cromosoma; *2*—número de fragmentos (en %)

radiación ultravioleta aplicada después de los rayos X hace bajar su eficacia. Según la cantidad de agua se modifica ostensiblemente el efecto de la radiación en las semillas secas. El formaldehído y el ácido cianhídrico, introducidos antes de la radiación, aumentan el número de mutaciones.

Existe una clara relación entre la radiosensibilidad de los cromosomas y la fase del ciclo celular. Al estudiar la gametogénesis en *Trillium erectum*, A. H. Sparrow demostró en 1952 que mediante la irradiación con rayos X a una dosis de 50 *rad*, la cantidad de fragmentos cambia notablemente en distintas fases de la meiosis, la cual para el polen dura dos meses (fig. 249). El mismo investigador descubrió el vínculo del grado de reducción de los cromosomas con la radiosensibilidad de éstos. El aumento del número de fragmentos desde la profase temprana hasta la diplotena está relacionado con la disminución regular de la longitud de los cromosomas. La reducción del número de éstos llegando a la intefase se vincula a la prolongación de los cromosomas. Con el estudio de los distintos estadios del ciclo celular en el ser humano, se ha demostrado la diferente reacción de distintos individuos sometidos a la radiación con una dosis de 50 *rad*. La mayor radiosensibilidad recae en la profase temprana y en la fase *S*.

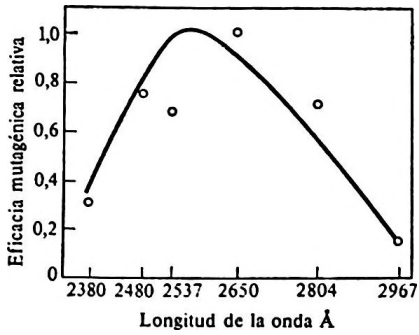


Fig. 250. Dependencia entre la frecuencia de las mutaciones inducidas por irradiación de células de *Escherichia coli* y la longitud de la onda de rayos ultravioletas (según A. Hollaender y M. Zelle)

Los datos sobre la posibilidad de producir una modificación artificial del efecto genético así como también los conocimientos sobre los factores naturales del restablecimiento de las afecciones génicas y cromosómicas demuestran que la radiación no provoca de golpe mutaciones acabadas en el cromosoma. Su acción conlleva al surgimiento de afecciones potenciales. Sólo pasando por una serie de etapas, estas últimas se convierten en mutaciones propiamente dichas.

EFECTO MUTAGÉNICO DE LA LUZ ULTRAVIOLETA. Los cuantos de la luz ultravioleta penetran muy débilmente en los tejidos, ya que su efecto mutagénico se manifiesta solamente en las monocapas celulares, tales como los microorganismos, el polen, las esporas en los núcleos que se encuentran en la superficie de los óvulos, etc. Las ondas de una longitud de 260 mμ resultaron ser más mutagénicas, las cuales son absorbidas por las moléculas de DNA (fig. 250 y 251).

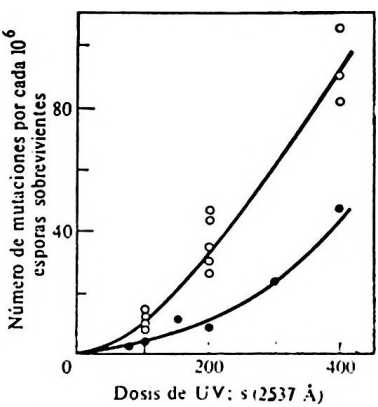


Fig. 251. Número de mutaciones del prototrofismo para la inosita inducidas por irradiación con luz ultravioleta de las esporas asexuales uninucleares en dos cepas de *Neurospora*

A diferencia de las radiaciones ionizantes, los fotones de luz ultravioleta poseen poca energía, apenas de 3 a 5 *eV*. La energía de estos fotones es insuficiente para provocar ionizaciones. Aquí occurre solamente la excitación de las moléculas, lo que posteriormente conlleva a la alteración química de éstas, a la formación de dímeros de timina, a la hidratación de la citosina y del uracilo, a la ruptura de los enlaces de hidrógeno y a las suturas del DNA

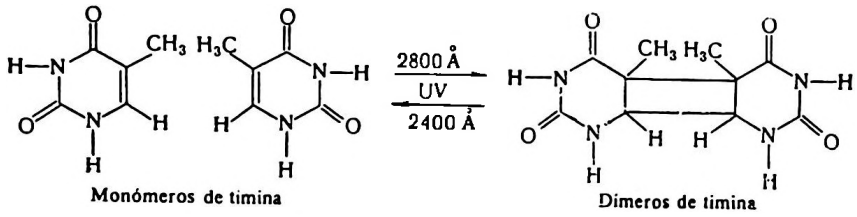


Fig. 252. Formación de dímeros de timina inducida por la irradiación ultravioleta (2800 Å) y escisión de dímero mediante la activación de la enzima fotorreactivante con luz visible (2400 Å)

y la proteína. La ausencia de acción del oxígeno en el efecto mutagénico provocado por la luz ultravioleta se diferencia sustancialmente de la acción de las radiaciones ionizantes.

La formación de dímeros de las pirimidinas es resultado característico de la acción de la luz ultravioleta. En la fig. 252 se muestra la formación de dímeros de timina. Tal dimerización puede dar dímeros *TT*, *CC* y *YY* así como también dímeros compuestos, por ejemplo *TC*. Los dímeros pueden, como regla, suturar las timinas que se encuentran dentro de una misma cadena polinucleotídica.

REPAPACIÓN DE LESIONES DEL MATERIAL GENÉTICO Las bases moleculares de la mutagénesis serán expuestas más adelante. Sin embargo, es oportuno examinar ahora un capítulo en esta dirección, el cual se refiere a la esencia del restablecimiento de las afecciones primarias premutacionales en los cromosomas.

Las afecciones primarias que surgen en las moléculas de DNA se eliminan reemplazándose por estructuras normales (restablecimiento o resustitución) mediante tres caminos: 1) el regreso a su estado inicial, 2) extirpación de la parte afectada y su sustitución por una normal (reparación en oscuridad o escisión) y 3) restablecimiento por recombinación (omisión de la parte afectada).

La fotorreactivación fermentativa específica para las afecciones provocadas en el DNA por la acción de los cuantos de luz ultravioleta, sirve de ejemplo para la resustitución del estado

inicial. En 1949, A. Kelner estableció que si las bacterias irradiadas con la luz ultravioleta son después expuestas a la influencia de la luz visible, su supervivencia aumenta considerablemente.

La efectividad de la fotorreactivación depende del nivel del pH, temperatura y del estado fisiológico de la célula. Se demostró que el efecto está relacionado con la acción de una enzima específica que fue extraída de las células de la levadura. Las particularidades de la realización de la síntesis de las proteínas en la célula con la conversión de los cambios potenciales en mutaciones verdaderas son rasgos característicos de la mutagénesis inducida por la acción de los rayos ultravioletas. E. M. Witkin demostró que el máximo de mutaciones en el caso cuando la síntesis de las proteínas transcurre un determinado tiempo después del tratamiento de los microorganismos con rayos ultravioletas.

El análisis de los fenómenos de la fotorreactivación permitió esclarecer el tiempo necesario para la formación de mutaciones después del tratamiento de la célula con cuantos de luz ultravioleta. Para este objetivo, las células de los actinomicetos sometidas a la acción de rayos ultravioletas fueron tratadas con luz visible en diferentes lapsos. Se demostró que si dicha luz se enciende inmediatamente después del tratamiento con la ultravioleta, entonces el 98% de las mutaciones se fotorreactiva. El número de mutaciones creció a medida que aumentaba el intervalo entre la radiación mutagénica con la luz ultravioleta y el posterior tratamiento con la luz visible. El número máximo de mutaciones se obtuvo con el intervalo de 7 horas. De esta forma, la luz ultravioleta, en el momento de la acción no provocó en seguida mutaciones espontáneas. Para convertir los cambios potenciales inducidos por la radiación ultravioleta en mutaciones verdaderas se exige un tiempo determinado, ya que sobre la base de las mismas están las alteraciones químicas en la estructura molecular del DNA.

El descubrimiento de la importantísima propiedad del aparato genético, que consiste en la autorrecuperación (reparación) de las lesiones químicas y de la radiación, resultó estar relacionado con el análisis de la mutagénesis inducida por la luz ultravioleta. Desde entonces, este apartado de la Genética ha despertado una gran atención. Su desarrollo ejerció una considerable influencia sobre los fundamentos de la teoría de las mutaciones.

Los procesos moleculares de la fotorreactivación consisten en lo siguiente. La enzima fotorreactivante específica «encuentra» dímeros pirimídicos y entra en reacción con ellos. Para la estimulación de la acción de la enzima es imprescindible la luz visible. En estas condiciones ocurre la escisión de los dímeros, la liberación de la enzima y el restablecimiento de la estructura nativa del DNA. La reacción fermentativa del corte de los dímeros ocurre por cuenta de la energía de la luz visible (véase fig. 252).

El proceso de la reparación en oscuridad es aún más complicado. El mismo fenómeno fue descubierto en 1955, y las bases moleculares de éste se esclarecieron después de los trabajos realizados en 1964 por R. Setlov y W. Carrier, R. Boyce y P. Howard-Flanders: Para estas investigaciones, la utilización de las líneas de las bacterias mutantes, sensibles a la acción de la radiación, jugó un papel primordial. Se estableció que en *E. coli* su sensibilidad a la radiación se rige por unos cuantos genes. Las mutaciones de estos genes suprimían su acción, lo que permitió estudiar por etapas la esencia de los procesos de la reparación en oscuridad. Se demostró que en DNA de las células normales de las bacterias y en DNA de las células mutantes susceptibles (línea *uvr*$^-$), los dímeros de timina surgen en igual cantidad bajo la acción de la luz ultravioleta. Sin embargo, los procesos posteriores en éstas fueron diferentes. En las células normales las afecciones se eliminaban, mientras que en las sensibles se conservaban alterando la duplicación de los cromosomas.

Estos hechos sirvieron de base para la creación de la teoría de los mecanismos de la reparación en oscuridad. En el transcurso de dicha reparación, el restablecimiento ocurre a través de la eliminación (escisión) de la parte dañada del filamento de DNA y el tapamiento de la brecha a base de la información genética del segmento normal del filamento DNA. El desarrollo de la reparación en oscuridad transcurre por una serie de etapas. En el cromosoma, bajo la influencia de la radiación ultravioleta, surge un dímero (fig. 253, *1*). Al principio, la endonucleasa específica encuentra la afección y corta cerca de ésta el hilo del DNA, en el cual se ha localizado la lesión (fig. 253, *2*). Luego, la exonucleasa agranda este corte «dando mordiscos» a los nucleótidos incluyendo al dímero (fig. 253, *3*). Con ayuda de la polimerasa, la brecha se cubre complementariamente de acuerdo con el filamento opuesto normal de DNA (fig. 253, *4*). La última etapa consiste en el trabajo de la polinucleotidligasa, la cual sutura el nuevo filamento con el viejo en el borde de la brecha (fig. 253, *5*).

En 1968, D. Rupp y P. Howard-Flanders describieron el proceso reparador, sobre cuya base está el mecanismo del enterecruzamiento (recombinación) entre las moléculas hermanas del DNA. Se demostró que las células bacterianas mutantes de la reparación en oscuridad, tienen a pesar de esto, capacidad de un tipo especial de reparaciones.

En 1964 Boyce y Howard-Flanders señalaron la analogía en el trabajo de las enzimas durante la reparación y el entrecruzamiento. Fueron descubiertas mutaciones que disminuyen la sensibilidad de las bacterias a la radiación ultravioleta y que reducen la frecuencia de recombinación. Estos mutantes recibieron el símbolo *rec*$^-$.

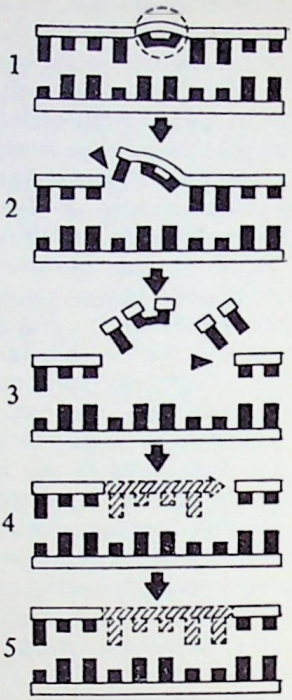


Fig. 253. Mecanismo molecular de la reparación en la oscuridad

1—5—sucesión de las etapas del proceso

En caso de la aparición de dímeros en los cromosomas de las cepas *uvr*$^-$, durante la duplicación de éstos en frente de los dímeros, se forman brechas. Estas últimas inducen el entrecruzamiento entre los filamentos fraternos. Los cromosomas recombinados utilizan las partes de los cromosomas sin brechas ni dímeros. Este filamento hijo reparado sirve como matriz para las posteriores duplicaciones. Con el aumento de la cantidad de dímeros, el cromosoma recombinado pierde la capacidad de duplicarse.

De esta forma, el análisis de la acción de la radiación ultravioleta sobre las moléculas de DNA, el estudio de los mutantes de la sensibilidad (*uvr*$^-$) y de los mutantes de la alteración del entrocruzamiento (*rec*$^-$), así como la investigación de la bioquímica y la enzimalogía del restablecimiento y el entrecruzamiento permitieron esclarecer la naturaleza de la autorrecuperación de la célula de las lesiones genéticas sufridas. En los últimos 15—20 años, estos trabajos se han abierto un capítulo absolutamente nuevo del estudio de la célula.

PROVOCACIÓN DE MUTACIONES ESTRUCTURALES DE LOS CROMOSOMAS BAJO LA ACCIÓN DE LA RADIACIÓN Y LOS MUTÁGENOS QUÍMICOS. La radiación y los mutágenos químicos provocan múltiples aberraciones cromosómicas. Las mutaciones estructurales en general las llamamos aberraciones de los cromosomas. Estas se dividen en mutaciones cromosómicas y cromatídicas. El tipo de aberración de los cromosomas depende de la fase en que se encuentra el núcleo en el ciclo celular. Con el tratamiento de los cromosomas en la fase G_1, cuando éstos están representados

Fig. 254. Intercambio cromosómico simétrico entre los cromosomas *D* y *C* en *Crepis capillaris*

Segmento distal del cromosoma *D* translocado en el brazo corto del cromosoma *C*. Arriba, cromosoma *C*, que unió un segmento grande del cromosoma *D*, abajo—cromosoma *D* recortado (señalados con flechas)

Fig. 255. Intercambio cromosómico asimétrico entre los cromosomas *A* y *D* en *Crepis capillaris*

La flecha de arriba indica un dicéntrico, la de abajo, un par de fragmentos

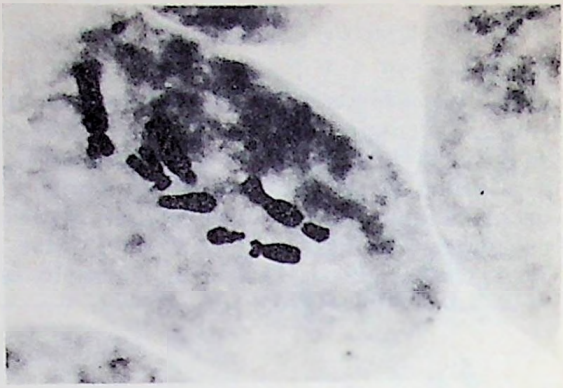


Fig. 256. Ruptura de isolocus en el cromosoma *D* en *Crepis capillaris*
Cromosoma *D* recortado y par unido de fragmentos

por un filamento efectivo, surgen las aberraciones cromosómicas. Los tipos principales de éstas son: los intercambios cromosómicos simétricos (fig. 254), y asimétricos (dicéntricos) (fig. 255), las deleciones terminales y las inversiones paracéntricas y pericéntricas. Con el tratamiento de los cromosomas después de la síntesis de DNA, cuando éstos ya se han autoduplicado en los cromátidas (fases S y G_2) aparecen rupturas cromatídicas de isoloci (fig. 256), deleciones (fig. 257), intercambios asimétricos cromatídicos (dicéntricos cromatídicos) (fig. 258, 259), triradiales e intercambios cromatídicos complejos (fig. 260).

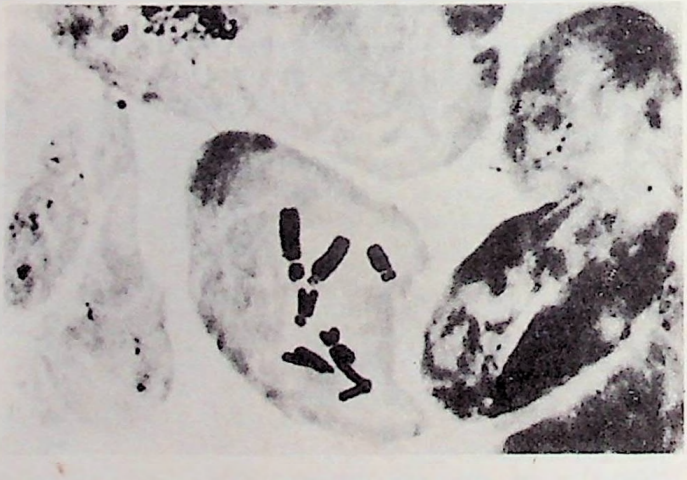


Fig. 257. Deleción cromatídica en el anillo distal del cromosoma *A* en *Crepis capillaris*

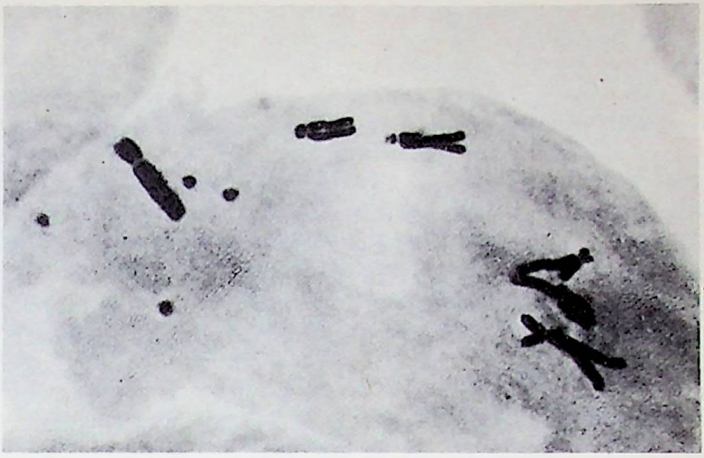


Fig. 258. Intercambio cromatídico entre el brazo corto del cromosoma *C* y el brazo largo del cromosoma *D*

Todo este espectro de mutaciones aparecen por la acción de los factores mutagénicos y se observan en la primera mitosis. De las aberraciones descritas sólo las traslocaciones simétricas y las inversiones se transmiten por una serie de generaciones celulares y pueden llegar a la siguiente generación de organismos. Todas las aberraciones asimétricas y todos los acétricos perecerán.

Fig. 259. Dicéntrico cromatídico entre las cromatidas de dos cromosomas *D* en *Crepis capillaris*

La flecha señala el dicéntrico corto. Abajo, atravesando dos cromátidas normales está un fragmento acéntrico cromatídico grande

Fig. 260. Intercambio cromatídico triple entre los cromosomas *D*, *D* y *A* en *Crepis capillaris*

En la reestructura compleja se ven dicéntricos cromáticos *AD* y *DD*

Un aspecto importante del mecanismo de la formación de aberraciones cromosómicas es el hecho de que ya después de la realización del cambio potencial en ruptura verdadera, estos lugares de los cromosomas quedan abiertos por algún tiempo. La duración del tiempo de vida de los fragmentos varía desde segundos hasta días dependiendo de una serie de causas: la etapa del ciclo celular coincidente con el tratamiento con mutágenos, la densidad específica de radiación y el tipo de enlaces químicos, los cuales se alteran en los cromosomas. Los fragmentos libres pierden la capacidad de reunirse (rupturas de isoloci, deleciones cromatídicas), se combinan en un nuevo orden (aberraciones de intercambio de los cromosomas), o se disponen de acuerdo con la vieja secuencia, restableciendo la estructura inicial de los cromosomas. Las uniones de los fragmentos requieren energía para el restablecimiento del enlace químico. Wolff estableció que las toxinas metabólicas suprimen la síntesis de las proteínas o el ATP, así como también la unión de los fragmentos libres de los cromosomas. Taylor demostró que la duplicación de DNA se realiza tanto para las aberraciones como para los fragmentos de los cromosomas. La reducción del grado de intensidad del oxígeno y la disminución de la temperatura también detienen la unión de dichos fragmentos. La centrifiguración conlleva a la desunión de los extremos rotos y oprime la capacidad de éstos a unirse.

En el presente, el problema de la longevidad de los fragmentos libres, cuyos extremos rotos conservan todo este tiempo la capacidad de reacción, difícilmente se diferencia del problema de las alteraciones potenciales de larga duración de vida.

MODIFICACIONES POTENCIALES PREMUTACIONALES DE LOS CROMOSOMAS. Ch. Auerbach, W. D. McElroy y R. Swanson expresaron la hipótesis de que bajo la acción de los factores mutagénicos, los genes pasan al estado metastable, o sea, de excitación, de cuyo resultado es posible la aparición de mutaciones o la reparación en estado normal bajo la influencia incluso de los factores de débil acción.

Primero Thoday y después Swanson fundamentaron la idea sobre los dos tipos de rupturas de los cromosomas: las primarias (verdaderas, realizadas) y las potenciales (latentes, capaces de producir mutaciones pasado algún tiempo). El destino de estas últimas no está predeterminado. Ellas producen rupturas verdaderas o en caso de pérdida de la excitación se restablecen en estructuras normales. V. I. Korogodin y N. V. Luchnik expresaron la hipótesis de que sólo las afecciones potenciales de los cromosomas, las cuales son con probabilidad menores que unidad en un tiempo determinado y pueden realizarse en afecciones verdaderas bajo las condiciones correspondientes, siendo resultado directo de la radiación.

Las modificaciones potenciales en los cromosomas surgen bajo la acción de los mutágenos químicos o por la acción de la radiación. Por ejemplo, con la germinación de semillas secas irradiadas se descubre un nivel determinado de afección de los cromosomas, relacionado con la cantidad de agua contenida en las semillas. Sin embargo, se puede conservar largo tiempo las semillas irradiadas (un mes y más). Al cambiar las condiciones antes de la germinación se puede disminuir o aumentar el número de lesiones de los cromosomas. Esto demuestra que la afección verdadera de los cromosomas aparece sólo en la primera mitosis durante la germinación de las semillas, mientras que en el período de conservación de las semillas los cromosomas en las células portaron sólo modificaciones potenciales. Kaufmann, Hollaender y Gay enunciaron la idea de que en *Drosophila* los cambios potenciales son resultado directo de la radiación. Nilan irradió los granos en reposo de la cebada a dosis de 45 y 90 *R* de rayos X que no provocan aberraciones cromosómicas. La posterior conservación de las semillas conllevó a un aumento considerable de la cantidad de aberraciones. Vatti y Yanush demostraron que la consecuente acción de la alta temperatura (37°C) una hora después de la radiación de las larvas de Drosophila con rayos X a una dosis de 100 *R* realiza modificaciones potenciales de los cromosomas aumentando 2—3 veces la frecuencia de las mutaciones letales. Según datos de Vatti y Yanuch, con la presencia de un alto nivel espontáneo de rupturas cromosómicas, los rayos X a una dosis de 100 *R* en general no provocan roturas verdaderas, sino sólo modificaciones potenciales mediante temperatura alta.

Los trabajos de R. F. Kimball, realizados en las poblaciones sincronizadas de *Paramecium aurelia*, contienen un análisis más

completo de las afecciones premutacionales de los cromosomas. El autor investigó los letales, la mayoría de los cuales, más bien, son resultado de las aberraciones cromosómicas. Al comparar la acción de la radiación ultravioleta ionizante y de los mutágenos alquilantes en diferentes fases del ciclo, Kimball considera posible destacar tres etapas principales en la mutagénesis. La primera comienza con la absorción de la energía de la radiación o la interacción primaria entre el mutágeno y el cromosoma y termina con la aparición de la afección molecular primaria. La segunda etapa corresponde al tiempo de existencia del cambio potencial y concluye con la establilización de éste, o sea, se convierte en mutación verdadera. La tercera etapa está relacionada con el momento en que se descubre la mutación, o sea, con la aparición del fenotipo mutante. Existen dos clases de modificaciones potenciales, surgidas por la acción de la radiación ionizante. A la primera se refieren las afecciones premutacionales, las cuales se fijan en mutaciones sólo en la fase de la síntesis de DNA, con la particularidad de que el rendimiento máximo de mutaciones de tales afecciones se observa sólo cuando la radiación se efectúa en el período maximalmente cercano a la fase *S*. Al alargar el tiempo comprendido entre el momento de la aplicación de la radiación y la síntesis de DNA, la mayor parte de estas modificaciones potenciales se restablece y de esta forma decae el rendimiento de las mutaciones. La prolongación artificial del período G_1, con el suministro de estreptomicina, por ejemplo, produce este mismo efecto.

Witkin (1956—1961) en los experimentos con las bacterias demostró que la inhibición de la síntesis de RNA después de aplicada la radiación ultravioleta, en un 90% baja el rendimiento de las mutaciones. T. Kada, C. O. Doudney y F. L. Haas (1961) establecieron que en estas mismas condiciones, pero después del tratamiento con radiación X se restablece casi la mitad de las mutaciones potenciales.

EMPLEO DE LA RADIACIÓN Y LOS MUTÁGENOS QUÍMICOS EN LA SELECCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS, PLANTAS Y ANIMALES. La obtención de mutaciones químicas y por radiación representó un método progresivo para la selección exitosa. La radiación para la obtención de los mutantes en los cultivos agrícolas fue aplicada por primera vez en 1930 por A. A. Sapeguin y L. N. Delone, quienes obtuvieron mutantes inducidos por rayos X en el trigo.

Los grandes éxitos en la selección química y por radiación condecoraron la selección de los microorganismos. Toda la industria microbiológica moderna destinada a la producción de antibióticos, aminoácidos, vitaminas y otras sustancias está organizada a base de la utilización de mutantes inducidos por radiación, principalmente ultravioleta así como mutágenos químicos.

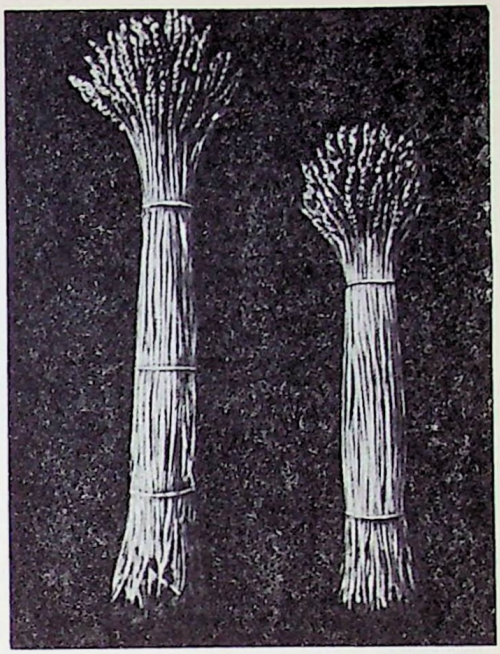


Fig. 261. Mutante de radiación del trigo no encamado con tallo grueso y corto, con calidad mejorada del gluten (a la derecha) (según P. K. Shkvarnik e I. V. Chiorni)

En la Unión Soviética se han obtenido grandes éxitos en los trabajos con los microorganismos. Toda esta nueva tendencia científica de producción en la selección de los microorganismos se remonta al trabajo de G. A. Nadson y G. S. Filippov, quienes en 1925 en el modelo de la levadura aplicando la acción de los rayos de radio obtuvieron por primera vez mutaciones inducidas en los microorganismos.

Una gran cantidad de mutaciones inducidas valorables está descrita en variados cultivos agrícolas tales como el trigo (fig. 261), algodón, patata, tomates, maní, plantas decorativas, etc.

Se han introducido en la práctica varias decenas de variedades, obtenidas sobre la base de la mutagénesis experimental. Se han abierto nuevas posibilidades ante la hibridación lejana. Aquí debido al cruzamiento entre las especies lejanas, es muy difícil obtener en la descendencia de los híbridos las combinaciones favorables para el seleccionador. Las influencias de la radiación permiten trasladar determinados genes de los cromosomas del tipo salvaje a los mismos de la planta de cultivo. Después de esto, utilizando la segregación se puede obtener formas de cultivo puras con algunos genes necesarios de los salvajes, introducidos en el cromosoma de éstas. Ejemplos de este tipo están dados en los trabajos de E. R. Sears, al cual le fue posible, con ayuda de la

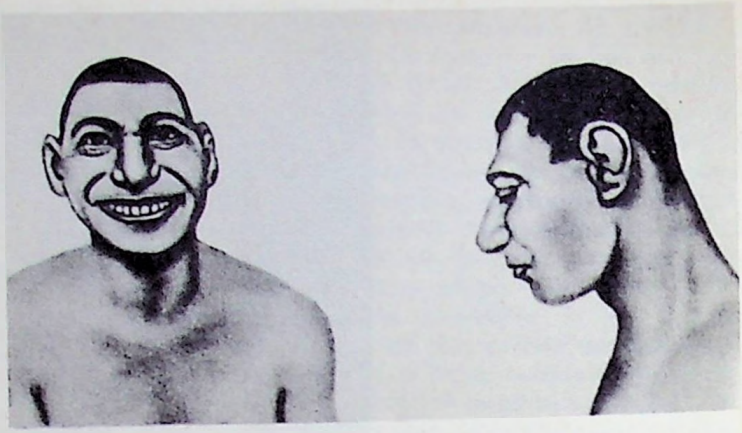


Fig. 262. Mutación dominante de la microcefalia, que conlleva a la idiotez

radiación, trasladar el gene de la resistencia a la roya, del cromosoma del *Aegilops* al cromosoma del trigo.

Interesantes ejemplos de transformación experimental de los cromosomas para la solución de las tareas de selección fueron obtenidos por V. A. Strúnnikov en los trabajos con el gusano de seda.

RADIACIÓN Y HERENCIA HUMANA. Al valorar la acción de la radiación sobre la herencia humana lo fundamental es que el efecto genético de la radiación no tiene umbral, o sea, las mutaciones pueden surgir a cualquier dosis, con la particularidad de que el número de afecciones es proporcional a la dosis. Para el ser humano, la cantidad de mutaciones en sus células embrionarias crece gradualmente en dependencia de la dosis cumulativa de radiaciones, la cual poco a poco va «acumulándose» desde su concepción hasta el final de su capacidad de procrear. El ciclo reproductivo en la vida humana se considera igual a 30 años. Las mutaciones surgidas en las células embrionarias humanas pueden alterar los procesos del desarrollo normal. En este caso, éstas son desviaciones hereditarias perjudiciales (figs. 262—265).

El estudio de los defectos congénitos en el ser humano demostró que casi todos ellos son, en un final, resultado de la aparición de mutaciones. Actualmente, en el medio que rodea al hombre ocurren innumerables cambios, lo que es consecuencia de ritmos veloces de introducción de variada técnica en la industria y en la vida cotidiana. En determinada medida lo dicho está relacionado con el aumento del fondo de las radiaciones ionizantes.

Al estimar el peligro de las radiaciones ionizantes para la herencia humana, es imprescindible tener en cuenta la circunstancia de que el peligro de la acción de las dosis pequeñas de

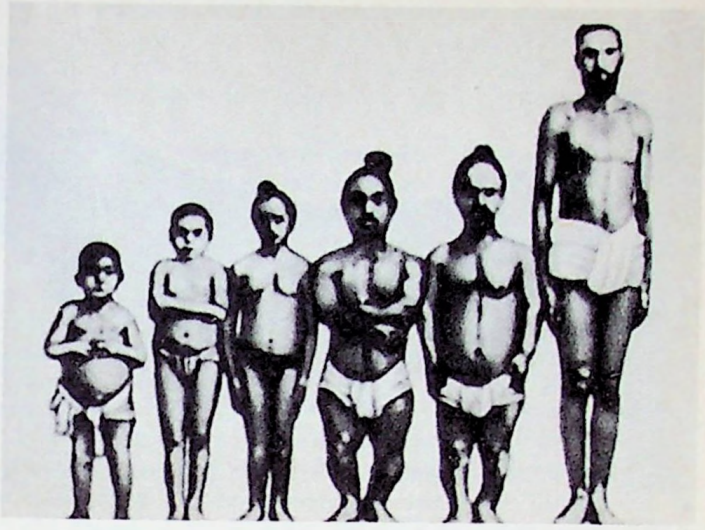


Fig. 263. Enanismo dominante en el ser humano (acondroplasia)

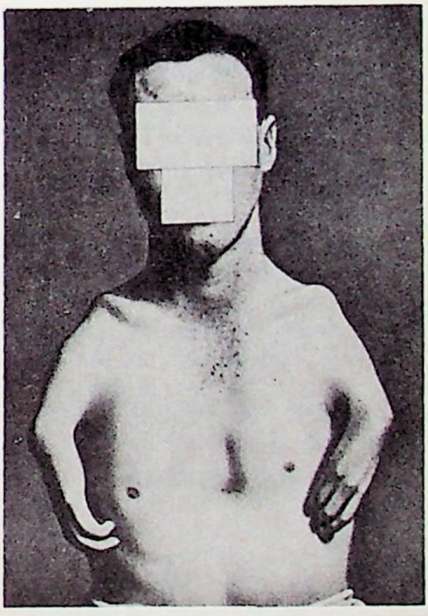


Fig. 264. Enfermedad congénita—brazos en forma de aletas

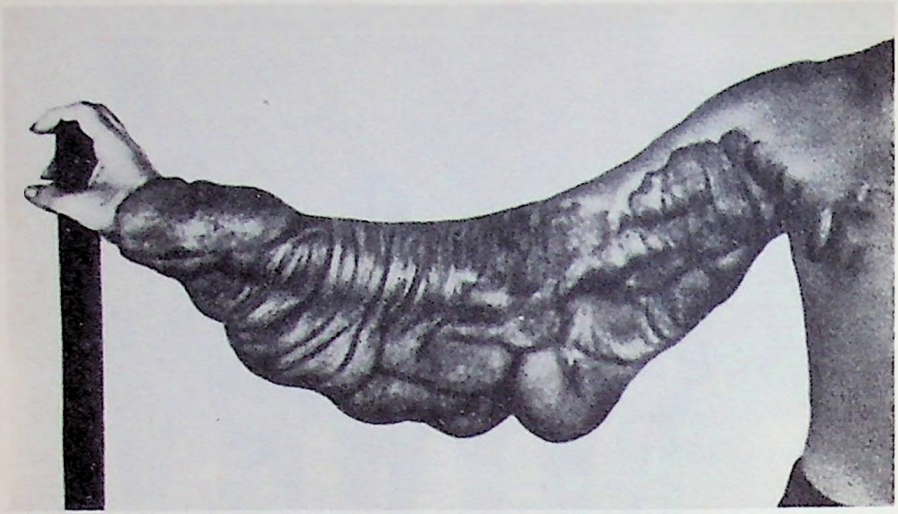


Fig. 265. Enfermedad hereditaria, que provoca la lesión de los nervios (según E. P. Anzinger)

radiación es amenazante sólo si en las condiciones del fondo radiactivo elevado viven grandes grupos humanos (población de los países, de los continentes). La radiación aplicada a pequeñas dosis mediante la influencia crónica sobre determinados individuos o pequeños grupos de la población no puede ejercer ninguna influencia más o menos manifiesta sobre la herencia de las futuras generaciones. Esto está relacionado principalmente con el hecho de que la frecuencia absoluta de mutación es reducida. Al valorar los fenómenos, relacionados con el empleo de la energía atómica, debe centrarse la atención, en primer lugar, en los factores que varían la radioactividad del medio en todo el mundo.

Supongamos que el nivel de radiación sobre la Tierra resultaría elevado de tal manera que en 30 años en lugar de la acumulación de una dosis sumaria de 3 *rad*, el hombre acumularía una dosis de 4 *rad*. Basándose en los datos sobre el proceso mutacional espontáneo y en los materiales experimentales sobre la radiosensibilidad citogenética de las células de los monos y del ser humano en el cultivo del tejido, N. P. Dubinin demostró que la dosis de 10 *rad* es uno de los límites inferiores en la valoración de la llamada dosis duplicada. La cuestión sobre la magnitud de la dosis duplicada se discutió en muchas ocasiones en la literatura y en muchas reuniones de expertos del Comité científico para la radiación, adjunta a la ONU. El Comité aprobó la dosis equivalente a 10 *rad* y a la luz de lo expuesto se pronunció resueltamente contra las pruebas del arma nuclear. En 1972, la Academia

Nacional de Ciencias de los EE.UU. reconoció en calidad de umbral inferior posible la dosis duplicada de 20 *rad*, lo que prácticamente concuerda con lo calculado anteriormente. Señalemos que para *Drosophila*, cuya radiosensibilidad comparada con el ser humano se considera más alta, la dosis duplicada está determinada en 50 *rad*.

La noción sobre la dosis duplicada fue introducida para la designación de la cantidad de energía necesaria para provocar un volumen complementario de mutaciones, igual al número de éstas, surgido en la mutagénesis espontánea. Con la condición de que la dosis en 10 *rad* duplica la frecuencia de mutación, la adición al fondo de energía de 1 *rad* conlleva a que complementariamente 800 mil personas por cada 200 millones en cada futura generación padezcan de anomalías hereditarias. Para la presente población del globo terráqueo de 3×10^9 de hombres, esta cifra será igual a 12 millones de personas abrumadas hereditariamente. Un problema serio será también el aumento de los tumores malignos. De esta manera la elevación de la radiación en el medio que rodea al ser humano, a una dosis mayor que la permitida, pone en peligro a la humanidad futura con la aparición de un gran número de vidas destruidas trágicamente. Lo mismo se refiere también a la introducción irracional de mutágenos químicos en el medio ambiente.

Preguntas para discutir

18-1. ¿Cómo se expresa la dependencia de la frecuencia de aparición de las mutaciones génicas en función de la dosis de radiaciones ionizantes?

18-2. Describa el concepto del blanco en la radiobiología

18-3. ¿Cómo se describe matemáticamente la curva «de un solo impacto»?

18-4. ¿Qué diferencia existe en la magnitud de la pérdida de energía por unidad de trayecto de partícula cargada de diferentes tipos de radiaciones?

18-5. ¿Qué quiere decir la eficacia biológica relativa en condiciones de radiaciones?

18-6. ¿Qué procesos constituyen la base de las afecciones producidas por radiación en el aparato genético de las células?

18-7. ¿Cuál es el estado actual del problema del umbral en los efectos genéticos en la radiación?

18-8. ¿Podemos nosotros modificar con factores externos e internos los efectos genéticos de la radiación?

18-9. ¿En qué consiste la esencia de la idea sobre las variaciones potenciales como antecesoras de las mutaciones verdaderas?

18-10. ¿Existe el fenómeno de la reparación para las mutaciones génicas y para las rupturas cromosómicas?

18-11. ¿Cuál es la dependencia entre el efecto genético de la radiación y la potencia y fraccionamiento de la dosis?

18-12. ¿En qué consiste la longevidad de los fragmentos de los cromosomas?

18-13. Describa las relaciones fundamentales entre la cantidad de mutaciones en los ratones bajo diferentes potencias de dosis

18-14. ¿En qué consisten las leyes fundamentales de los cambios del efecto genético de la radiación al aplicar la dosis fraccionada?

18-15. ¿En qué consiste el sistema de reparación en la célula?

18-16. ¿Por qué no manifiestan su efecto las sustancias defensoras para defender a la célula de las afecciones radiactivas de los cromosomas al usarse pequeñas dosis de radiación?

18-17. ¿Existe algún componente no reparable en el tratamiento con pequeñas dosis?

18-18. ¿Cuál es la diversidad de los coeficientes de arreglo al comparar los efectos genéticos por tratamiento con dosis grandes y pequeñas en diferentes tejidos de un organismo y en distintas especies?

18-19. Describa el cuadro de la eficacia genética relativa para diferentes tipos de radiaciones y para distintas especies de organismos.

18-20. ¿Cuáles son los tres principios fundamentales que determinan el cuadro de las afecciones genéticas producidas por radiación?

18-21. ¿En qué consiste la especificidad de la acción de los rayos ultravioletas en la célula al inducirse las mutaciones?

18-22. Describa los tipos fundamentales de mutaciones estructurales de cromosomas inducidas por radiaciones.

18-23. ¿En qué consiste el uso de la radiación para la selección de microorganismos, plantas y animales?

18-24. ¿Cuáles son los problemas que existen en la Genética humana con relación al posible aumento artificial del fondo de radiación en la Tierra?

18-25. ¿Cuáles son los caminos por los que se producen los procesos de reparación que permiten el restablecimiento del estado nativo del cromosoma: a través de la eliminación de las lesiones originales o mediante caminos indirectos de la reparación, con ayuda de las recombinaciones?

XIX Mutagénesis química

Por mucho tiempo uno de los fundamentos de la teoría de mutaciones fue el postulado sobre la actividad única e irreversibilidad de las variaciones mutacionales que surgen a saltos bajo la acción directa de radiaciones ionizantes. La teoría de mutaciones actual se ha enriquecido con un nuevo contenido. El descubrimiento de la alta efectividad genética no sólo de las radiaciones, sino también de muchas sustancias químicas ha jugado un papel de gran importancia en el conocimiento de los mecanismos de mutagénesis.

PROPIEDADES QUÍMICAS DE LAS SUSTANCIAS MUTAGÉNICAS. En la actualidad además de las radiaciones ionizantes y los rayos ultravioletas, se conocen cientos de sustancias químicas que poseen actividad mutagénica. De acuerdo con los principios del mecanismo de su acción se han separado nueve clases fundamentales de mutágenos químicos:

1. Compuestos alquilantes.
2. Peróxidos.
3. Aldehídos.
4. Hidroxilaminas.
5. Acido nitroso.
6. Antimetabolitos incluyendo los análogos de las bases de DNA.
7. Sales de metales pesados.
8. Colorantes con propiedades básicas.
9. Varias sustancias fundamentalmente de la serie aromática (cancerígenos, alcaloides, algunos preparados farmacéuticos, herbicidas, insecticidas y otros).

En la actualidad los compuestos alquilantes son el grupo más amplio de mutágenos químicos (fig. 266). La esencia del efecto mutagénico está relacionada con el hecho de que ellos

son la fuente de la introducción en la molécula de DNA de tales radicales como metilo (CH_3), etilo (C_2H_5), propilo (C_3H_7) y otros. Por tanto aquí occurre una reacción de metilación, etilación, etc. Entre los compuestos alquilantes mutagénicos son muy conocidos los epóxidos, iperita, etilenimina, metanosulfonato de etilo, uretano y otros (fig. 267).

Como ejemplo de la acción mutagénica de las sustancias oxidantes y reductoras podemos citar el efecto del yodo, el fenol, los peróxidos de hidrógeno en presencia del formaldehído y otros

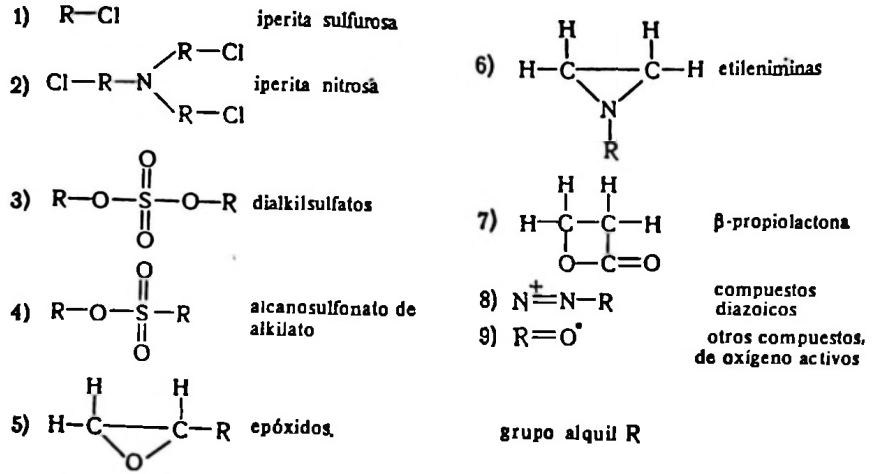


Fig. 266. Tipos de los compuestos alquilantes

compuestos. El significado de los radicales libres y de los factores mutagénicos se ha demostrado con una serie de ejemplos. Así pues, al introducir en la célula un hierro bivalente y el peróxido de hidrógeno, se produce la reacción de Fenton, la cual provoca la aparición de los radicales OH y H_2O de la siguiente forma:

$$F^{++} + H_2O_2 \rightarrow F^{+++} + OH^- + OH^+,$$
$$OH^+ + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2^+.$$

Fue descubierto que estos radicales libres poseen una actividad mutagénica muy alta. La propiedad mutagénica de las bases púricas y pirimídicas se demuestra en muchos experimentos. La nebuliarina (purina-D-ribosido), 4-bromuracilo y otros derivados de las bases nitrogenadas provocan mutaciones en las plantas, fagos, bacterias y otros organismos. De la misma forma que la radiación los mutágenos químicos poseen universalidad en su acción. Así por ejemplo, se ha demostrado que el metanosulfonato de etilo tiene una destacada actividad mutagénica en *Drosophila*, *Neurospora*, cebada, colibacilo, el fago *T4*, etc.

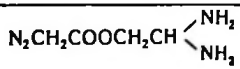
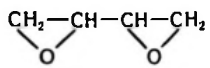
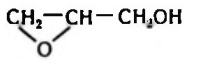
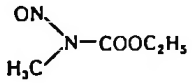
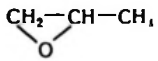
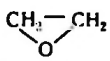
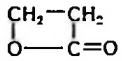
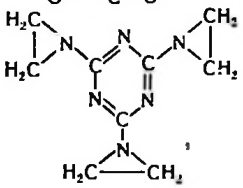
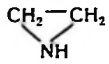
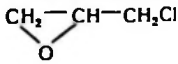
MUTÁGENO	FÓRMULA QUIMICA	OBJETO SOBRE EL CUAL SE DESCUBRE EL EFECTO MUTAGÉNICO
Asaserina		*E.coli*
Sulfuro de butilcloroetilo	$C_4H_9SC_2H_4Cl$	*D. melanogaster*
Diazometano	N_2CH_3	*D. melanogaster* *Neurospora crassa*
Sulfato de dimetilo	$SO_2(OCH_3)_2$	*D. melanogaster* *Vicia faba*
Sulfato de dietilo	$SO_2(OC_2H_5)_2$	*E. coli* *D. melanogaster*
Diepoxibutano		Fago T4. *N. crassa*
Sulfuro de di-(β-cloroetilo)	$S(C_2H_4Cl)_2$	Cebada *D. melanogaster*
Alcohol glicilico		*N. crassa*
Metanosulfonato de metilo	$CH_3OSO_2CH_3$	*D. melanogaster*
N-metil-di-(cloroetilo)-amino	$CH_3N(C_2H_3Cl)_2$	*D. melanogaster* *Vicia faba*
Nitrosometiluretano		*E. coli* *Vicia faba*
Oxido de propileno		*Ophiostoma multiannulatum* *N. crassa*
Oxido de etileno		*D. melanogaster* Cebada
β-propiolactona		*E. coli*
Trietilenmelamina		*E. coli* Cebada *D. melanogaster*
Formaldehido	CH_2O	*D. melanogaster*
Fenol	C_6H_5OH	*D. melanogaster*
Etilenimina		*D. melanogaster* *Vicia faba* Cebada
Metanosulfonato de etilo	$C_2H_5OSO_2CH_3$	*D. melanogaster* Cebada Fago T4
Etanosulfonato de etilo	$C_2H_5OSO_2C_2H_5$	Fago T4
Epiclorohidrina		*N. crassa*

Fig. 267. Compuestos alquilantes mutagénicos

ESPECIFICIDAD EN LA MUTAGÉNESIS QUÍMICA. Los mutágenos químicos han resultado potentes agentes que provocan mutaciones génicas de aberraciones cromosómicas. Sin embargo, su efecto se diferencia mucho de la acción de la radiación. En los primeros trabajos sobre el efecto mutagénico de la iperita fue establecida una cantidad menor de aberraciones de los cromosomas con relación a las mutaciones génicas y al fenómeno de la mutagénesis retardada. Lo último consiste en la aparición de un número mucho mayor de mosaicos después del tratamiento con iperita. Esto atestigua que bajo la acción de la iperita las mutaciones surgen frecuentemente no en el momento de acción del mutágeno, sino después de una serie de generaciones celulares.

Los mutágenos químicos descubren también la especificidad con respecto unos a otros. Ha sido demostrado que los espectros de mutaciones provocadas por diferentes mutágenos químicos, pueden diferenciarse grandemente.

Se ha establecido el fenómeno de especificidad a nivel de los cromosomas, es decir, la llamada especificidad regional. Muchos mutágenos químicos encuentran las regiones «débiles» de los cromosomas atacando principalmente a éstas. En muchos casos, gran cantidad de afecciónes surgen en la heterocromatina. Para algunos mutágenos se ha demostrado que las rupturas que surgen bajo su acción en el cromosoma se distribuyen no aliatoriamente, cosa que los diferencia de la acción de los rayos ionizantes. Existen hechos precisos de la especificidad intergénica cuando determinados genes sufren mutación con más frecuencia que otros bajo la acción de un mutágeno dado (tabla 21). Las investigaciones

Tabla 21

Especificidad intergénica en Neurospora bajo la acción de diferentes factores mutagénicos

Mutágeno	Número de mutaciones inversas por cada 10^6 conidios		$\frac{Aden^+}{Inos^+}$
	$inos^- \rightarrow inos^+$	$aden^- \rightarrow aden^+$	
Proceso de mutación espontánea	0,02	0,2	10,0
Etilmetanosulfonato	11,3	17,4	1,5
Sulfato de dietilo	4,3	16,8	4,0
Sulfato de dimetilo	3,4	84,0	24,7
Metansulfonato de cloretilo	0,3	51,0	170,0
Diepoxibutano	0,2	89,0	455,0
Metanosulfonato de bromoetilo	0,04	152,0	3800,0
Rayos ultravioletas	7,1	3,5	0,5
Rayos X	0,2	3,2	16,0

sobre la región *r*II del fago *T4* han descubierto un cuadro pormenorizado de la especificidad intralocus. Resultan de gran interés los hechos de no aditividad bajo la acción combinada de diferentes mutágenos. En experimentos con *Neurospora* Witkin y Theil descubrieron el fenómeno de interacción del diepoxibutano y los rayos ultravioletas (tabla 22).

Tabla 22

Acción combinada de dos mutágenos sobre Neurospora

Mutágeno	Número de mutaciones inversas por cada 10^6 conidios	
	inos⁻ → inos⁺	aden⁻ → aden⁺
Diepoxibutano	0,1	1,6
Rayos ultravioletas	4,0	2,5
DEB + UV	4,2	18,8

Por el momento la búsqueda de interacciones de diferentes mutágenos marcha a ciegas. Sin embargo, utilizando este principio, S. I. Alijanián y otros obtuvieron una serie de cepas de alta actividad productoras de antibióticos (tabla 23).

Tabla 23

Selección de cepas de alta actividad productores del antibiótico eritromicina por la acción combinada de mutágenos

Mutágeno	Colonias		%
	total	con productividad elevada	
Rayos ultravioletas	200	1	0,5
Etilenimina	485	1	0,2
Rayos ultravioletas y después etilenimina	690	5	0,7
Etilenimina, después rayos ultravioletas	526	9	1,7
Rayos X, después etilenimina	1235	2	0,16
Etilenimina, después rayos X	793	6	0,7
Rayos X	290	3	1,0
Procesos de mutación espontánea	200	0	0

Los datos de la tabla 23 demuestran que la combinación de los rayos ultravioletas y la etilenimina aumenta el rendimiento de las cepas necesarias, mientras que la combinación de la etilenimina con los rayos X lo disminuye.

Los resultados sobre la mutagénesis química demostraron que en la inducción química de mutaciones presenciamos un

proceso complejo y de muchas etapas. La aparición de las mutaciones no es un simple hecho de interacción entre el mutágeno y el gene. Aquí surge una consecuencia compleja tratándose de una mutagénesis retardada, de especificidad intergénica e intragénica y de un fenómeno de interacción compleja de mutágenos. Todo esto indica que variando las condiciones internas y externas de las células podemos intervenir en el proceso de conversión de las mutaciones. Ante nosotros se plantea la tarea principal en la mutagénesis química, que es el conocimiento de la esencia de las diferentes afecciones primarias del cromosoma bajo la acción de diferentes mutágenos y posteriormente la noción sobre diversas vías de su conversión en mutación sobre la que deja su huella la especificidad de las condiciones intracelulares.

CROMOSOMAS EN LAS DIFERENTES FASES DEL CICLO CELULAR Y ACCIÓN DE LOS MUTÁGENOS QUÍMICOS. Uno de los puntos centrales en el estudio de la naturaleza de la acción de diferentes mutágenos al provocar ellos aberraciones cromosómicas, es la determinación del carácter de la interacción entre el mutágeno y la sustancia del cromosoma en las diferentes fases del ciclo celular. Entre las cuatro fases del ciclo: G_1 (fase de presíntesis, en la cual el cromosoma está representada por un filamento efectivo), S (fase de síntesis de DNA, el cromosoma ya se encuentra separado en dos filamentos), G_2 (fase de postsíntesis, el cromosoma se representa por dos cromátidas), M (mitosis, las cromátidas se presentan en forma de cromosomas dispuestos a separarse hacia los polos opuestos formando las células hijas), una de ellas, precisamente la fase S, se diferencia cualitativamente de las demás. En las fases G_1, G_2 y M existen estructuras cromosómicas o cromatídicas formadas. En la fase S se realiza la construcción de nuevos cromosomas valiéndose del flujo de nucleótidos (precesores del DNA) que se integran al núcleo. ¿De qué modo estas diferencias fundamentales influyen en la interacción entre los mutágenos y el cromosoma? Resulta interesante el hecho de que los mutágenos, variando a los precesores de las bases o nucleótidos pueden provocar mutaciones. Debido a lo expuesto los investigadores prestaron gran atención sobre la mutagénesis en la fase S.

Un análisis citogenético de los tipos de aberraciones de cromosomas, permite dar una característica relativa de la eficacia de diferentes mutágenos en las fases determinadas del ciclo y demostrar hasta cierto punto, en qué momento del ciclo se realiza la transformación de las variaciones potenciales en mutaciones finales. Además de esto, la investigación sobre la dinámica de la aparición de las aberraciones de cromosomas al usarse los puntos cercanos de fijación a lo largo de un período de tiempo bastante grande, da la posibilidad de obtener una noción completa sobre el carácter y la duración del efecto posterior mutagénico.

Kihlman propuso dividir los mutágenos en dos clases de acuerdo con el cuadro de su acción citogenética: con efecto retardado y sin efecto retardado. La clase de los mutágenos retardados se caracteriza por no actuar en la fase G_2. Como resultado del estudio de las mitosis después de un tratamiento con mutágeno, al comienzo se descubren células no afectadas, mientras que después, cuando las células tratadas con el mutágeno en las fases S y G_1 entran en la mitosis, en éstas aparecen cromosomas lesionados. En este caso todas las aberraciones resultan cromatídicas, es decir, la fijación de las mutaciones ocurre en la fase S.

La clase de mutágenos no retardados provoca aberraciones durante todas las fases del ciclo y la fijación de las mutaciones se va produciendo en el marco de la misma fase. Es muy lógico que cuando las mutaciones se provocan por los precesores de DNA variados, ellos actúan por lo general en el transcurso de la síntesis del DNA (fase S).

En los últimos tiempos se han descubierto algunos nuevos mutágenos químicos, los cuales ejercen su acción prácticamente sólo sobre las células que se encuentran en la fase G_2. Kihlman y Odmark demostraron que al tratar las radículas del habón *Vicia faba* con el ácido 1, 3, 7, y 9-tetrametilúrico se provocan aberraciones cromosómicas sólo en las células que se encuentran en la fase G_2.

La cuestión de la detección de la fase del ciclo celular en que los compuestos alquilantes actúan sobre los cromosomas, tiene una importancia cardinal para toda la teoría de la mutagénesis química. Si los mutágenos con efecto retardado actúan sobre los cromosomas en la fase G_1, entonces debemos aceptar la existencia de variaciones potenciales, ya que la aparición de aberraciones se produce mucho tiempo después del momento del tratamiento con el mutágeno con la particularidad de que la misma calidad de la aberración se determina por el carácter del comportamiento de los cromosomas ya no en la fase G_1, sino en la S. En caso de que la acción del mutágeno se limita solamente a la fase S, estamos tratando de su interacción directa con el cromosoma, por lo visto, a través de las modificaciones de los precesores del DNA.

En los espermatozoides de *Drosophila*, los cromosomas se encuentran en estado de un filamento efectivo (fase G_1). Sin embargo, Ch. Auerbach y J. M. Robson (1946) establecieron que al tratar los espermatozoides con iperita, en sus cromosomas aparecen tanto mutaciones génicas completas, como de mosaico, las cuales suelen aparecer varias generaciones celulares después, lo que conlleva a la formación del mosaico.

La propiedad de los compuestos alquilantes de provocar, al actuar en la fase G_1, las llamadas mutaciones completas, es decir, variaciones de genes culminadas que abarcan un locus entero de un filamento efectivo, en la actualidad se ha confirmado tanto en *Drosophila*, como en *Neurospora*, maíz, cebada y los ratones.

Bajo la acción de compuestos alquilantes alrededor del 50% de las mutaciones génicas en los espermatozoides de *Drosophila* son completas. Al mismo tiempo, los rayos X producen el 93—95% de mutaciones completas. Una de las explicaciones al hecho de que en la célula tratada en la fase G_1 aparecen mutaciones cromatídicas, consiste en la idea de la conservación prolongada del mutágeno o de sus productos en la célula. En este caso, éstos llegan a persistir hasta la fase S, y actúan directamente sobre el cromosoma, provocando así aberraciones. Sin embargo, aún Ch. Auerbach señaló que después de tratar los espermatozoides de *Drosophila* con iperita, las mutaciones se observan solamente en los cromosomas paternos, pero si la fecundación se produce después de varias horas del tratamiento de las hembras con iperita, entonces no surgirán mutaciones en los cromosomas investigados.

D. Green y D. Krieg (1961) trataron con etilmetansulfonato sobre dos diferentes mutantes del fago *T4*. Uno de los mutantes produjo reversiones bajo la acción del mutágeno en cuestión, el otro no tenía esta cualidad. Los fagos del segundo tipo fueron tratados con metanosulfonato de etilo fuera de las células y luego produjeron una coinfección, es decir, infectaron las bacterias con dos mutantes al mismo tiempo. Si el mutágeno se hubiera conservado en los fagos tratados, entonces los fagos del primer tipo la liberarse, hubieran dado una reversión. Sin embargo, esto no se observó.

En lo que se refiere a la cuestión de las fases del ciclo celular, resultaron de mucho interés los experimentos sobre el tratamiento con etilenimina de semillas secadas al aire *Crepis capillaris*. L. C. Niémtseva (1965) demostró en experimentos de radiación de semillas secas de esta planta, que el 100% de las aberraciones tienen un carácter cromosómico. Por tanto, el 100% de las células en las semillas de *Crepis capillaris* en reposo se encuentran en la fase G_1. ¿Cómo va a reaccionar una población celular en semillas secas bajo la acción de compuestos alquilantes?

En contra de lo ya conocido sobre el efecto mutagénico de los compuestos alquilantes al tratar con dichos mutágenos las plántulas, L. G. Dubínina y N. P. Dubinin (1968) en los experimentos de tratamiento de semillas secas, demostraron que en determinadas concentraciones de etilenimina surgen variaciones cromosómicas al afectarse los cromosomas en la fase G_1. Por lo tanto el concepto anterior de que los compuestos alquilantes provocan solamente aberraciones cromatídicas de los cromosomas, resulta incorrecto. Esta idea surgió como resultado del hecho de que hasta estos momentos la influencia de los compuestos alquilantes, por lo general, se había investigado en las células que se encontraban en estado de metabolismo activo.

El descubrimiento del nuevo principio de acción de los compuestos alquilantes sobre células con metabolismo mínimo (semi-

llas secas), indiscutiblemente tiene un carácter general y no se limita solamente al ejemplo de las semillas de *Crepis capillaris*. En 1965 M. Rammànna y A. Nataraján informaron en forma general, que al tratar las semillas de cebada con tres mutágenos del grupo de alquilalxansulfonatos (metanosulfonato de etilo, etanosulfonato de metilo) habían registrado la aparición de aberraciones tanto cromatídicas como cromosómicas. Por tanto las semillas de *Crepis capillaris* y de cebada en principio reaccionan de una misma forma a los compuestos alquilantes. Después fue demostrado, que con el tratamiento de semillas secas de *Nigella damascena L.* aparecen aberraciones solamente del tipo cromosómico.

El hecho de que con la acción mutagénica sobre semillas secas, cuyas células se encuentran en la fase G_1, surgen tanto aberraciones cromosómicas como cromatídicas, indica que al principio, al parecer, se inducen variaciones potenciales y después parte de estas últimas se realizan en la fase G_1, dando aberraciones cromosómicas y parte en la fase S, conllevando a variaciones cromatídicas.

A la luz de estos datos resultan comprensibles los hechos de obtención de mutaciones génicas completas inducidas por compuestos alquilantes en los espermatozoides de *Drosophila* células de clorela, espermatozoides de ratones, etc. En este caso el principio de acción de dichos compuestos coincide con los fenómenos descubiertos en las semillas secas de plantas al inducir aberraciones cromosómicas. Para finalizar, podemos decir que el principio de la acción química de los compuestos alquilantes sobre el blanco en forma de moléculas de DNA fuera de una dependencia obligatoria de su capacidad de autorreproducción, está justificado completamente.

El descubrimiento de un aspecto nuevo del efecto de los compuestos alquilantes, relacionado con su capacidad en determinados estados intracelulares de provocar aberraciones cromosómicas, permite realizar un análisis experimental multilateral sobre la naturaleza de la acción de estos mutágenos y de las causas de modificación de su efecto. En el examen de los datos expuestos desde el punto de vista de la molécula de DNA como blanco se divisa el cuadro único de los fundamentos del proceso mutacional inducido por los rayos ionizantes y todos los tipos de mutágenos químicos. En todos estos casos, independientemente de que la acción sea primaria o secundaria, el blanco siempre serán las estructuras moleculares de DNA no obstante a su propiedad de autorreproducirse. Es posible que la fase de síntesis sea un campo para la mutagénesis especial que se caracteriza por la inclusión de los precesores variados en la molécula de DNA que se construye.

La especificidad de la mutagénesis radica en las diferencias entre la específica inicial de afección de las estructuras moleculares

de DNA por diferentes factores mutagénicos. Sobre esta especificidad se sobrepone la influencia de diferentes condiciones intracelulares. El significado de las diferentes fases del ciclo celular está relacionado en primer lugar con el hecho de que las afecciones primarias de los cromosomas tienen un carácter de variaciones potenciales. El destino de los diferentes tipos de variaciones potenciales, depende de las diversas condiciones intracelulares, las cuales varían los períodos de realización de las variaciones potenciales que cambian el trabajo del sistema de reparación y la acción de otros factores modificadores intracelulares.

ACERCA DEL MOSAICISMO MUTACIONAL. A la luz del problema de la mutagénesis prolongada, resulta de gran interés el fenómeno descubierto hace tiempo en la *Drosophila* del mosaicismo mutacional bajo la acción de mutágenos alquilantes sobre las espermas. En 1947 Ch. Auerbach descubrió que una de las diferencias fundamentales entre la acción de los rayos *X* y la iperita, es el alto porcentaje de mutaciones mosaicas que se producen con el uso del mutágeno químico. El fenómeno del mosaísmo ha sido establecido ya para una serie de mutaciones visibles. Es interesante señalar que entre las mutaciones visibles del gene *Minute* en la descendencia de los machos tratados con iperita no hubo una que afectara más de la mitad del cuerpo. El tipo aberrado de las quetas en la tercera parte de los mosaicos con este gene ocupaba menos del 25% de la superficie del cuerpo.

Entre las hipótesis sobre la esencia del mecanismo de la formación de los mosaicos mutacionales propuestas por Ch. Auerbach, en primer plano se destaca la idea sobre la inestabilidad del cromosoma surgido bajo la acción de mutágenos químicos. Esto puede ser una mutación verdadera con una alta capacidad de producir mutaciones inversamente hacia su alelo normal, o puede ser que exista una inestabilidad de locus que se expresa con la conservación de la posibilidad potencial de producir mutaciones a través de muchas generaciones celulares. En la actualidad está claro que la última suposición es la correcta.

En 1958 Loveless descubrió que el metanosulfonato de etilo provoca mutaciones en las partículas del fago *T2*, al tratarse éstas fuera de la célula de la bacteria. D. Green y G. Krieg (1961) confirmaron este hecho en experimentos con *T4*. Un rasgo característico de la mutagénesis en este caso fue la aparición de placas de mosaico (de manchas estériles), las que contenían tanto formas mutantes del fago, como normales. Pero no quedó clara la cuestión sobre el momento de acción del mutágeno: durante el tratamiento de las partículas de fago «*in vitro*» o durante la reproducción de las partículas de fago en el interior de la célula bacteriana. En sus trabajos posteriores D. Green y D. Krieg resolvieron la cuestión de la naturaleza de las mutaciones que surgen en las

partículas de fago *T4* después del tratamiento con metanosulfonato de etilo «*in vitro*».

El estudio de la relación entre las partículas mutantes y no mutantes del fago en placas mixtas demostró que las mutaciones se iniciaban con igual probabilidad en cualquier generación en la fase del crecimiento vegetativo. Esto excluye la posibilidad de distribución de los filamentos mutantes y no mutantes y de la estructura inicial de DNA del fago. De esta manera fue establecido el mecanismo del proceso mutacional retardado.

A. Nasim (1967) analizó cuidadosamente el fenómeno de la inestabilidad replicativa en experimentos con levaduras haploides tratadas con cuatro mutágenos químicos (metanosulfonato de etilo, nitrosometilguanisina, hidroxilamina, ácido nitroso), y también sometidas a radiaciones ultravioletas. El autor investigó la frecuencia de aparición de colonias de mosaicos secundarias que surgen de mosaicos primarios determinados por el cambio de coloración de las células en la cepa de adenina purpúrea (*ad*-7). A raíz de la acción mutagénica, la colonia de mosaico de color rojo blanco puede aparecer al ocurrir la mutación en cualquiera de los 5 loci analizados. A. Nasim estableció que en cada uno de los casos locus que mutaba en el mosaico primario y tambien formaba sectores en el mosaico secundario que se obtenía de éste.

De esta forma, A. Nasim dedujo que la transmisión de inestabilidad en la *Schizosaccharamyces pombe* se realiza por el mismo mecanismo que en la *Drosophila*. La particularidad específica de la inestabilidad es su propiedad de autoduplicarse, así como también el hecho de que ella, por lo general, está limitada por una estrecha región del cromosoma la cual frecuentemente corresponde al locus ocupado por un gene.

Hechos muy interesantes referentes a la inestabilidad replicativa se obtuvieron en la acción de preparados de DNA sobre la *Drosophila*. En trabajos de Herchenson y C. Mathew (1965), las larvas se alimentaban en un medio con alta concentración de DNA extraído de timo de tornero. Se ha demostrado la aparición de gran candidad de mutaciones letales completas y de mosaico en el segundo cromosoma. Probablemente, éstas fueron deleciones localizadas en un segmento determinado del segundo cromosoma. En generaciones de moscas obtenidas por un tratamiento con DNA de las lavras, se señala la aparición repetida de estas mutaciones.

A. S. Fox y Jones (1966) trataron embriones de *Drosophila* con DNA preparado de moscas adultas que genéticamente se diferenciaban. Se señaló la aparición de nuevos alelos de acuerdo con el carácter del DNA donante, con la particularidad de que fueron posibles los cambios tanto del alelo dominante hacia el recesivo, como en sentido contrario. Este efecto no se provocó por un DNA homólogo preparado de moscas del mismo genotipo,

por eso es que los autores lo interpretaron como específico del locus. La mutagenicidad general de los preparados de DNA, por lo visto, era insignificante. Aunque el fenómeno del mosaísmo en loci concretos puede perderse, no obstante, en algunos casos éste volvía a aparecer durante 140—210 divisiones celulares. Los autores valoraron este efecto de DNA como una inestabilidad replicativa altamente específica.

De lo expuesto anteriormente se deduce que la inestabilidad replicativa, descubierta en la *Drosophila* y levaduras, no se refiere a la inestabilidad general del cromosoma propiamente dicho, sino que está relacionada con algún gene bien determinado. Dichos genes pasan a un estado en el cual con una probabilidad muy alta, mucho mayor que el nivel del proceso mutacional espontáneo, pueden sufrir mutaciones en una serie de generaciones celulares, conservando, posiblemente, en algunos casos su inestabilidad, incluso al transferir a otro estado alelomórfico.

Es bien conocido que la frecuencia de mutación espontánea en cada locus determinado de una especie dada, es una de las características del gene así como lo es la especificidad de su reacción en respuesta a diferentes efectos mutagénicos. Bajo la influencia de diferentes mutágenos, ocurre la aceleración del ritmo de mutación espontánea del gene en cuestión. El mecanismo de este misterioso fenómeno queda completamente incomprensible, aunque es probable que concierna a la estructura fina del gene, el cual de acuerdo con las concepciones actuales es un complejo sistema altamente integrado. Por esto es imposible trazar un paralelo entre la mutagénesis prolongada al formarse aberraciones cromosómicas y el fenómeno de la inestabilidad replicativa. Sin embargo, para las variaciones potenciales que se transforman en aberraciones de cromosomas, queda en vigencia la hipótesis acerca de que estas últimas pueden surgir en una serie de generaciones celulares (pero bastante limitada), partiendo de las afecciones premutacionales que persisten durante mucho tiempo y son capaces de pasar ocultas por una o varias fases de la síntesis del DNA. Estas lesiones son inducidas, generalmente, por agentes alquilantes.

ACERCA DE LA NATURALEZA DE LA MUTAGÉNESIS PROLONGADA. Los hechos expuestos demuestran que en los últimos tiempos efectivamente se han descubierto nuevos aspectos de la teoría de as mutaciones. Con relación a esto, algunos problemas de la mutagénesis deben tener otra interpretación. Por ejemplo, el término «mutagénesis retardada» es más correcto utilizarlo únicamente para la descripción de un retraso en la aparición de las mutaciones en el marco de un ciclo mitótico, puesto que refleja la regularidad de realización de variaciones potenciales de reparación a raíz de la fase de síntesis del DNA. Todas las demás categorías de

«mutaciones retrasadas», N. P. Dubinin en 1966 propuso definirlas como mutagénesis prolongada. Este concepto abarca tanto a las mutaciones que aparecen después de dos o más duplicaciones, como al fenómeno del efecto duradero posterior con una fase característica de desarrollo en un solo período del ciclo. Este fenómeno se describe para la población sincrónica de células subrayando el valor primordial del factor de tiempo en el desarrollo del proceso de la acción posterior.

Gran cantidad de datos sobre los fundamentos moleculares del proceso mutacional hablan unívocamente sobre el hecho de que los mutágenos (esto está claro sobre todo para los compuestos alquilantes), en el transcurso de la reacción inicial con el cromosoma, provocan solamente afecciones premutacionales. Incluso altas concentraciones de etilenimina, las cuales fueron empleadas en el trabajo de N. M. Emanuel y sus colaboradores (1965) tratando una molécula aislada de DNA, no provocaron una inmediata aparición de rupturas de la macromolécula, sino que por el contrario, éstas surgían más tarde, después de un período determinado de inducción.

Han hecho intentos de interpretar la mutagénesis prolongada desde el punto de vista del cromosoma multifilamentoso. En este caso parece, que el desarrollo de la variación potencial debe abarcar paulatinamente a todos los loci paralelos del gene multidimensional y sólo entonces aparecerá la mutación. Desde esta posición, se puede imaginar, que las afecciones premutacionales, las cuales surgen en una o varias subunidades para luego llegar a ser rupturas isosubcromatídicas o una mutación génica completa, se distribuyen en dirección perpendicular a la longitud del cromosoma. La mayoría de los investigadores que analizan el rol de la estructura cromosómica multifilamentosa en la mutagénesis, estiman, sin embargo, que el problema no es así. La subcromátida variada copia la afección en el transcurso de las duplicaciones consecutivas de tal forma que finalmente todos los filamentos en el locus dado pasan a ser mutantes. Si por ejemplo, un cromosoma está constituido por 8 subunidades y precisamente el filamento mutante se convierte en matriz inicial (unidad de crecimiento) para la duplicación, entonces la mutación aparecerá en la tercera mitosis. Algunos autores consideran incluso que el efecto retardado de determinados mutágenos y el mosaísmo surgido después del tratamiento de espermatozoides de *Drosophila* son una de las demostraciones de la estructura multifilamentosa del cromosoma. Sin embargo, demostraciones totalmente irrefutables acerca de la existencia de al menos dos subunidades de igual valor en el cromosoma no se han presentado hasta ahora. Tampoco con métodos de análisis genético se ha logrado fundamentar la multidimensión espacial del gene.

Un gran número de trabajos realizados en su mayoría en la década del 50, se ha dedicado al análisis de las llamadas muta-

ciones subcromatídicas estructurales de los cromosomas, considerando que, por lo general estas aberraciones se interpretan como semicromatídicas. Estas últimas surgen particularmente en el tratamiento, con rayos X o mutágenos radiomiméticos con acción no retardada, de las células que se encuentran en la profase mitótica o meiótica y en la fase G_2, teniendo en cuenta que los cromosomas en este período se representan por cuatro filamentos efectivos. Todos los compuestos alquilantes, con escasas excepciones, y la hidrazida maleica del ácido maleico no provocan las llamadas aberraciones subcromatídicas. Por ahora no existe una opinión unánime sobre la naturaleza de estas variaciones estructurales del cromosoma. Unos autores estiman que éstas son verdaderas rupturas semicromatídicas y recambios que en el segundo ciclo mitótico se transforman en cromatídicos. Otros niegan la naturaleza subcromatídica considerando que estas modificaciones son aberraciones cromatídicas, enmascaradas por matrices.

En la actualidad la concepción de que la distribución de los filamentos normales y mutantes es la causa de la mutagénesis prolongada debe estar en concordancia estricta con los datos ya existentes en la literatura acerca de las regularidades de duplicación del DNA y del cromosoma entero. En sus trabajos I. L. Taylor demuestra en forma precisa que la distribución de la marca de timidina (timidina-H^3) a través de las mitosis consecutivas ocurre de acuerdo con un mecanismo semiconservativo. Finalmente I. G. Brewen y W. I. Peacock (1969), utilizando en su trabajo la marca, la cual permitió dar juicio acerca del carácter de la unión de cadenas polinucleotídicas en la formación de aberraciones cromosómicas, comprueban definitivamente que la base del cromosoma, en las formas superiores, es una larga molécula de DNA.

MUTAGÉNESIS DE RESONANCIA. El término «mutagénesis de resonancia» fue introducido en 1965 por N. P. Dubinin. Este concepto está relacionado con uno de los aspectos más interesantes de la mutagénesis de acuerdo con el cual el tiempo de la aparición de las mutaciones no responde a nuestros conocimientos sobre la estructura y autorreproducción de la molécula de DNA.

El filamento de DNA está constituido por dos cadenas de polinucleótidos y su autorreproducción se lleva a cabo de acuerdo con los principios de la duplicación semiconservativa. Tal parece que ningún mutágeno, al actuar sobre uno de los filamentos de la molécula de DNA, puede variar la molécula inicial de tal forma, que el 100% de su descendencia se constituya por formas mutantes. La obtención de las mutaciones debe acompañarse del surgimiento del mosaísmo, que se manifiesta principalmente en la aparición del 50% de descendientes celulares variados y el 50% de los normales. Sin embargo, en los experimentos

esto no ocurre. En la mutagénesis es bien difundido el fenómeno de la aparición de las llamadas mutaciones completas y de mosaicos. Las primeras presentan algo así como la aceleración de la mutagénesis, cuando toda la descendencia del cromosoma mutante original dota de la mutación. Este rasgo, en primer lugar, es característico para la mutagénesis de radiación. Con respecto al mosaicismo, sus particularidades tampoco responden al mecanismo molecular esperado, ya que, por regla general, a dicho fenómeno concierne una parte de la descendencia que compone menos de 50%. En este caso tiene lugar el retraso de la mutagénesis y este cuadro propio principalmente de la mutagénesis química. Sin embargo, se conoce, que los mutágenos químicos pueden inducir mutaciones completas, en las cuales la molécula inicial mutante de DNA da el 100% de los descendientes variados. La aparición de la mutagénesis retardada, en particular, de los mosaicos en gran medida suele provocarse también por la acción de las radiaciones. Si en el período inicial del estudio de la mutagénesis química resultaba difícil la interpretación del fenómeno del mosaicismo, en la actualidad la aparición de las mutaciones completas exige explicaciones especiales.

Muller y sus colaboradores intentaron aclarar la incógnita de las mutaciones completas inducidas por la acción de las radiaciones valiéndose de la hipótesis de rotación, cuya base constituye la idea acerca de las rupturas simultáneas que se producen en los enlaces entre el azúcar y la base en ambas bases complementarias en dos cadenas de DNA. Un giro de 180° que sufre la pareja después de esta ruptura puede cambiar la posición de ambas beses provocando el cambio simultáneo de las dos cadenas de polinucleótidos en la molécula de DNA. Es obvio que esta molécula produce la mutación en todos sus descendientes a base de la autorreproducción semiconservativa.

A. Nasim y Ch. Auerbach (1967) analizaron de una forma crítica las hipótesis existentes acerca del origen de las mutaciones completas. Una de las conjeturas suponía, que solamente un filamento (principal) de DNA sirve como matriz en la duplicación y si la variación mutacional ocurrió en éste en la fase G_1, entonces tal modificación entonces debe convertirse en mutación completa. Sin embargo, los experimentos efectuados por los autores sobre el análisis de las mutaciones completas y mosaicas en la levadura *Schizosaccharamyces pombe* inducidas por radiación ultravioleta, HNO_2, metanosulfonato de etilo y la nitrosoguanidina no la comprobaron. Al tratar las células que estaban en la fase G_1 se produjeron tanto mutaciones completas como mosaicas, incluso para algunos mutágenos la frecuencia de mosaicos fue alta.

De acuerdo con la segunda hipótesis, la aparición únicamente de clones mutantes, y no mosaicos, a partir de una molécula de DNA variada puede estar provocada por el hecho de que en

uno de los filamentos complementarios se origina una variación letal (la llamada hipótesis del impacto letal). Sin embargo, en base a los datos de los autores mencionados, esta hipótesis tampoco puede aceptarse. Después de un tratamiento de las levaduras con HNO_2 la cantidad de mosaicos queda, en suficiente medida, constante dentro de los límites amplios de supervivencia (de 100 a 1%).

La tercera hipótesis supone, que el fundamento de la aparición de mutaciones completas y mosaicas lo constituyen variados mecanismos moleculares. Sin embargo, en los momentos actuales

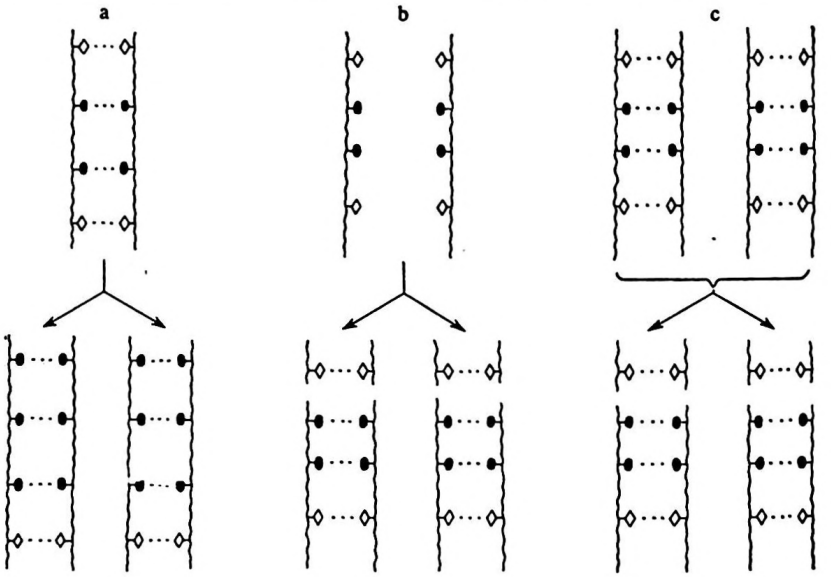


Fig. 268. Fundamentos moleculares de la aparición de mutaciones completas en una molécula de DNA o simultáneamente en dos (*a*—fase G_1, *b*—fase *S* y *c*—fase G_2):

a—mutaciones génicas completas que aparecen al cambiar ambas bases en el par de los nucleótidos de la molécula de doble cadena; *b*—variaciones de isolocus en las estructuras de cadena simple; *c*—variaciones de isolocus en ambas cromátidas cada una de las cuales representa la molécula de DNA de doble espiral

no existen datos para fundamentar dicha hipótesis. No obstante, que los mecanismos de aparición de mutaciones génicas y aberraciones cromosómicas se diferencian mucho, una serie de procesos primarios, sobre todo en la fase de las variaciones potenciales, pueden ser semejantes.

Al discutir el problema de la aparición de las mutaciones génicas completas, es decir, cuando varían ambas cadenas de la molécula de DNA, resulta de interés la categoría de las variaciones cromatídicas y cromosómicas que surgen como diferentes aberraciones a consecuencia de ruptura de isoloci. La fig. 268 presenta

la semejanza entre los mecanismos de aparición de mutaciones génicas completas (las variaciones corresponden a ambas bases en el par de nucleótidos); de las rupturas de isoloci a raíz de la acción en la fase G_1 (la molécula de DNA todavía no se ha separado) y las rupturas de isoloci que tienen lugar en la fase S y G_2. Quedaba bajo misterio absoluto la forma en que surgen todos estos procesos mutacionales al parecer diferentes, según su mecanismo, dada la condición de que en las moléculas iniciales de DNA la afección en todos los casos interese a los loci individuales en uno de los dos filamentos polinucleotídicos.

MUTACIONES Y PROCESOS DE REPARACIÓN. La aparición de las mutaciones se determina por tres acontecimientos fundamentales. El primero es el surgimiento de las afecciones moleculares primarias en el cromosoma, las cuales son resultado de la interacción entre el mutágeno y la molécula de DNA. Estas lesiones provocan perturbación en la estructura de DNA (excitación, ionización, desprendimiento de átomos o radicales) que de inmediato pueden ser reparadas. En caso de que la etapa de interacción primaria concluya con la variación en la estructura de DNA la cual se conserva suficiente tiempo, comenzará entonces la etapa de estado premutacional propiamente dicho. Este estado también es metastable y puede regresar al estado primario.

De esta manera, después del surgimiento de la afección primaria hay un largo período entre el estado premutacional y la mutación, que debe transcurrir para que el estado premutacional podrá concluir en una mutación verdadera. Por tanto debemos destacar una tercera etapa de realización de la mutación: la aparición de la mutación propiamente dicha, como consecuencia de la fijación del cambio potencial convertido en un estable estado mutacional molecular.

Una nueva página en el análisis del destino del estado premutacional y, por lo visto, de la realización de las mismas mutaciones, se encuentra relacionada con el descubrimiento de los sistemas reparativos. Se ha demostrado que dicho estado puede ser restablecido con ayuda de los diferentes sistemas celulares de reparación. Basta mencionar que el 40—60% de DNA de *Escherichia coli* que lleva afecciones puede ser recortado del DNA con nucleasas específicas y posteriormente reparado en el transcurso de una duplicación reparativa a consecuencia de lo cual la célula restablece completamente su estructura nativa.

Los procesos reparativos son responsables de la eliminación de las afecciones premutacionales. En las bacterias se han descrito diferentes sistemas enzimáticos de la reparación: fotorreactivación y fotoprotección, reparación en oscuridad, reactivación con rayos ultravioletas y muchos tipos de las llamadas reactivaciones «indirectas». Hubo un tiempo en que parecía que las bacterias eran

las únicas que tenían estos tipos de reparación. Sin embargo, en 1967 en una gran cantidad de investigaciones se demostró que estos sistemas también existen en las formas superiores. El mecanismo molecular del funcionamiento de la enzima fotorreactivadora de los peces coincidió totalmente con el de la enzima bacteriana. Su función se reduce a recortar dos dímeros de pirimidinas: su monomerización. La fotorreactivación fue descrita también para las plantas inferiores y superiores. En los animales superiores se logró encontrar además un sistema enzimático de reparación en oscuridad, responsable de recortar los sectores de DNA afectados por los rayos ultravioletas en las células del cultivo de tejidos humanos. Los dímeros de timina y los mixtos de timina y citosina que surgían después de la irradiación con rayos ultravioletas eran recortados de la molécula de DNA y sustituidos por sectores de moléculas recién sintetizadas. El siguiente ejemplo demuestra la efectividad del proceso de reparación. Al irradiar con rayos ultravioletas con longitud de onda de 2650 Å con dosis 100 *erg/mm*^{2} se inducen, en un núcleo de células de cultivo de tejidos, 150 mil dímeros de timina. Este número gigantesco de sectores afectados de DNA se sustituye por células menos de la mitad de las cuales son normales al cabo de 48 horas. El sistema de reparación en oscuridad fue descubierto también en muchos hongos.

Además resulta importante el hecho de que las afecciones inducidas por radiación no son las únicas reparadas, sino que también lo son las lesiones químicas. Por ejemplo, se registró el fenómeno de reparación en oscuridad para las afecciones provocadas por el ácido nitroso, iperitas sulfúrica y nítrica, mitomicina C, carcinofilina, 4-nitroquinolina-1-óxido, nitrosoguanidina, metansulfonato de metilo, etc.

Todo esto indica el carácter universal que tienen las reacciones reparativas y su papel exclusivo en el mantenimiento de la estructura nativa de DNA. Cabe subrayar especialmente que en el proceso de reparación ocurre la eliminación de afecciones premutacionales que de no ser así se transformarían en mutaciones. Esta restauración se produce a alto precio para la célula: muchos fragmentos afectados de DNA son reconocidos por enzimas especiales, recortados por nucleasas y reparados por polimerasas.

Hace muy poco no podíamos interpretar los fenómenos descritos a base de los mecanismos moleculares conocidos de las mutaciones. En estas condiciones se limitó a enunciar una idea general sobre la existencia de la mutagénesis de resonancia, sobreentendiendo bajo este término la transferencia del daño de un filamento de la molécula de DNA al otro normal.

En el proceso de mutagénesis de resonancia por causas todavía incomprensibles, a raíz de la afección de un filamento en la molécula inicial de DNA, en ésta cambian dos componentes homólogos. No obstante a lo paradójico del fenómeno, es precisamente de esta forma como surgen con más frecuencia mutaciones. Su

base consiste en las variaciones en las moléculas de DNA, las cuales no producen mosaicos en las generaciones celulares.

Se han obtenido nuevos enfoques en el problema de la mutagénesis de resonancia utilizando ideas adoptadas del campo de los fenómenos de reparación del material genético. Sobre esta base se ha enunciado la hipótesis de corrección. La afección surgida en un filamento de DNA forma una heterocigosis molecular. El fenómeno de reparación consiste en eliminar dicha lesión. La corrección puede ir en dos direcciones: eliminando el defecto o, liquidano la estructura opuesta normal, formando una brecha enfrente de la lesión sin que actúe el mecanismo de duplicación del cromosoma. Por lo visto, existe una enzima especial, la correctasa, la cual asegura el desarrollo del proceso de corrección.

La idea sobre el papel de la corrección de las mutaciones completas ha sido expresada de distintas formas por E. B. Freese y E. Freese (1976), K. Haefner (1967), A. Nasim y Ch. Auerbach (1967), P. Howard-Flanders (1967), E. Witkin (1968), y N. P. Dubinin (1969).

En la actualidad, tomando como base el funcionamiento de los sistemas de reparación y recombinación, estos autores han propuesto una serie de hipótesis las cuales pretenden explicar la naturaleza de la mutagénesis de resonancia durante la aparición tanto de mutaciones completas en moléculas de DNA en reposo, como de mosaicos en los procesos de síntesis de DNA. Respecto a las mutaciones completas la conjetura más adecuada, desde nuestro punto de vista, es aquella de acuerdo con la cual la endonucleasa, al principio, no recorta la afección, sino elimina erróneamente la parte del filamento normal que se encuentra frente a ésta. La reparación de esta brecha enfrente de la afección primaria en los procesos de síntesis replicativa puede provocar la inserción de una base errónea. Posteriormente el recorte consecutivo de la misma lesión permite fijar una nueva base complementaria en la reparación de la segunda brecha. Al retardarse la reparación de la primera brecha, la aparición de la segunda en la porción que se encuentra enfrente, debe provocar la escisión del cromosoma.

Los sistemas reparativos participan en la realización de las mutaciones estructurales de los cromosomas y en los procesos de entrecruzamiento. Un cuadro claro de influencia de las enzimas de reparación en oscuridad fue observado en el análisis de los fenómenos del ensarte de los cromosomas. En 1969—1972 N. P. Dubinin y L. S. Niémtseva demostraron que la forma fundamental de ensarte del anillo en el cromosoma bastonado (fig. 269), al pasar la síntesis de DNA y la profase de mitosis, se transforma en 12 tipos de ensarte (fig. 270). Esto ocurre gracias a la escisión de los filamentos del anillo en el entrecruzamiento somático y debido a la formación de la brecha. Es posible que ocurran deslizamientos de dos cromátidas bastonadas de esta brecha provocando la aparición de los 12 tipos de ensartes. La escisión de los filamentos

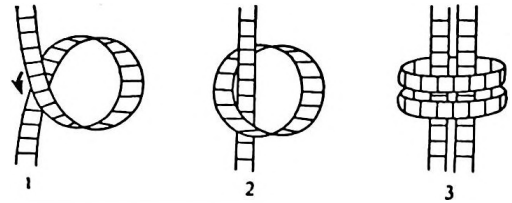


Fig. 269. Forma inicial del ensarte del anillo sobre el cromosoma bastonado

1—formación del asa y el corte de éste por las enzimas; *2*—aparición del ensarte; *3*—ensarte después de la síntesis de DNA

del anillo y el empalme de la brecha se aseguran por el trabajo de las enzimas de reparación.

En el paso a la segunda mitosis en condiciones de crecimiento en colquicina, de acuerdo con lo esperado, surgen cientos de tipos de ensartes, lo que corresponde a la escisión de los anillos y al deslizamiento de cuatro cromátidas a través de la brecha.

Los procesos de reparación se han descubierto en todos los tipos de sistemas vivos, siendo las formas principales de la defensa bioquímica natural de las células contra las acciones perjudiciales. Nos encontramos en el mismo comienzo del camino de la investigación de estos sistemas. Todavía no está claro qué papel juegan las membranas nucleares y citoplasmáticas en estos fenómenos

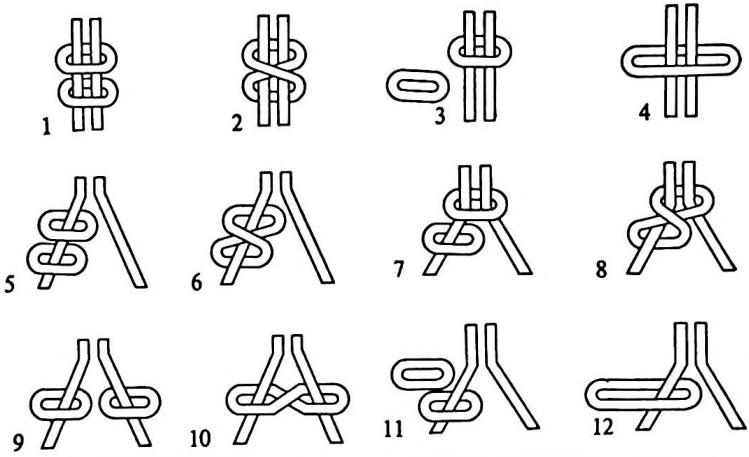


Fig. 270. Doce tipos de ensartes de los cromosomas anulares que aparecen después de la irradiación de las células en la fase G_1 del ciclo celular. Los tipos del 3 al 12 aparecieron como resultado del deslizamiento de las cromátidas bastonadas a través de las brechas en los anillos en el entrecruzamiento somático entre las cromátidas hermanas; el tipo *1* es el inicial y el *2* apareció como resultado del entrecruzamiento de los anillos sin deslizamiento

y cómo se desarrollan los procesos de reparación en las plasmidas. Por lo visto, existen sistemas de reparación desconocidos por nosotros.

La elaboración del estudio sobre los procesos de reparación es uno de los caminos más principales en la dirección de las mutaciones. Su conocimiento tendrá gran importancia para la lucha contra la influencia sobre la herencia humana por parte de los factores mutagénicos del medio ambiente. Algunas formas de cáncer están relacionadas con la pérdida por las células de sistemas de reparación que funcionan activamente. La cuestión más importante es la relacionada con el carácter de los cambios en el trabajo de los sistemas de reparación en los procesos de desarrollo individual y en el envejecimiento. El problema de la reparación tiene también importancia primordial para la elaboración de métodos de Ingeniería genética sobre lo cual se hablará más adelante.

TIPOS FUNDAMENTALES DE AFECCIONES POTENCIALES EN LOS EXPERIMENTOS CITOGENÉTICOS. Aunque el abismo que divide la Genética molecular de la Citogenética y de la Genética de los organismos superiores se estrecha, la distancia entre éstas todavía es considerablemente grande. Debemos reconocer que el fenómeno de las afecciones potenciales en los cromosomas, al nivel que actualmente se ha descubierto y se investiga en los experimentos citogenéticos y genéticos, no siempre se encuentra su explicación en los mecanismos moleculares conocidos. En el período comprendido entre el momento de interacción del mutágeno con la molécula de DNA y la aparición de las mutaciones, a nivel de las variaciones potenciales, existe una cadena de sucesos desconocidos por nosotros. El descubrimiento de la naturaleza molecular de los estados metastables en los cuales radica la esencia de las variaciones potenciales no tendrá menor valor que el análisis de las afecciones primarias.

Los conocimientos acumulados permiten hacer un intento de clasificar los tipos fundamentales de variaciones potenciales en cuya base proponemos una serie de características genéticas y citogenéticas, a saber: la dependencia de la reacción de DNA con el tipo de mutágeno que actúa sobre la célula; la fase del ciclo celular en la que se aplica el mutágeno; la duración de vida de la variación potencial dentro de los límites de un ciclo celular; la capacidad del material genético inestable de duplicarse pasando por una cadena de síntesis de DNA y la fase del ciclo celular en la cual ocurre la fijación de la variación potencial en mutación.

Pueden distiguirse tres clases principales de variaciones potenciales: 1) variaciones potenciales con un período corto de vida; 2) variaciones potenciales con un período largo de vida las cuales se fijan en el primer ciclo celular; 3) variaciones potenciales con período de vida muy largo con posibilidades de duplicación y con

capacidad de pasar por una serie de síntesis del DNA. Los hechos fundamentales tomados como base de esta clasificación corresponden tanto a las aberraciones cromosómicas como a las mutaciones génicas.

VARIACIONES POTENCIALES CON CORTO PERÍODO DE VIDA. Este tipo de variaciones refleja un esquema clásico de formación de aberraciones cromosómicas. En este caso el tipo de aberración se determina por la fase en la que actúa el mutágeno. Si la acción se desarrolla en la fase G_1, surgen aberraciones cromosómicas y si la influencia se aplica en la fase de síntesis de DNA o en la fase G_2 aparecerán variaciones cromatídicas.

Sin embargo, esta es una sencillez aparente. Resulta imposible comprender el mecanismo de los procesos que se desarrollan en las variaciones potenciales desde posiciones adoptadas hasta ahora. El problema consiste en que la aparición de la mutación cromosómica es un ejemplo de mutación completa para una molécula de DNA de doble espiral. Por lo tanto, cabe explicar la aparición de estas mutaciones en la fase G_1 y aclarar por qué las afecciones primarias no persisten hasta la fase S donde debieran transformarse en mutaciones cromatídicas.

La hipótesis antes expuesta de las brechas no reparadas explica la aparición de la ruptura completa de la molécula de DNA de doble espiral. Al mismo tiempo la célula dispone de condiciones bajo las cuales las afecciones primarias surgidas en un filamento se reparan rápidamente, la endonucleasa desarrolla su función de una forma tan intensiva que asegura la eliminación completa de las afecciones primarias y la fijación de las mutaciones en un período de tiempo relativamente corto, o bien actúan simultáneamente ambos mecanismos. Como resultado, si en una población sincrónica el mutágeno se aplica en la fase G_1, cuando el cromosoma está representado por una molécula de DNA de doble hélice, surgirán aberraciones solamente del tipo cromosómico. Como todas las lesiones primarias se reparan o se recortan, con la particularidad de que en el segundo caso se lleva a cabo la síntesis replicativa, todos estos cromosomas llegan a la fase de síntesis de DNA en estado normal. Esta es la causa de la ausencia de las mutaciones cromatídicas.

Los hechos demuestran que al radiar las semillas de *Crepis capillares*, en que prácticamente todas las células del embrión se encuentran en la fase G_1, obtendremos aberraciones casi exclusivamente de tipo cromosómico. Si el mutágeno actúa en la fase S se afectará una matriz. Puesto que el segundo filamento complementario se copia por su modelo, se provocará la aparición de una mutación cromatídica. En la fase G_2 cada cromátida está representada por una molécula de DNA de doble espiral y en ésta el mecanismo de mutación es el mismo que en la fase G_1, pero el resultado consiste en la aparición de aberraciones cromatídicas.

Este tipo de mutagénesis «no retardada» se provoca, por lo general, por irradiaciones ionizantes y algunos radiomiméticos. Los hechos de correspondencia del tipo de mutaciones a la fase en la cual se aplicó el mutágeno son bien conocidos para la *Vicia faba*, *Crepis* y muchas otras formas.

VARIACIONES POTENCIALES CON LARGO PERÍODO DE VIDA LIMITADO POR UN CICLO CELULAR LAS CUALES SE FIJAN EN MUTACIONES EN LA FASE DE SÍNTESIS DEL DNA. Investigaciones sobre la acción de compuestos alquilantes y de otro tipo cambiaron la noción clásica sobre la dependencia entre el tipo de mutación y la fase en que actúa el mutágeno. En este caso resultó que las afecciones potenciales tienen un período largo de vida y se fijan en mutaciones en la fase de síntesis del DNA. En estas condiciones el mecanismo de doble corte de los filamentos de DNA no funciona. Las afecciones primarias o las brechas de un filamento no perduran hasta la síntesis del DNA provocando rupturas cromatídicas y los correspondientes intercambios cromatídicos. En estas condiciones, al tratarse poblaciones asincrónicas y sicnrónicas en cualquier base del ciclo celular, todas las aberraciones resultan cromatídicas. Al actuar sobre un filamento polinucleotídico despues de la autorreproducción de los cromosomas, en la segunda mitosis aparecen mutaciones cromatídicas. Este tipo de afecciones potenciales son inducidas por la acción de los compuestos alquilantes, hidrazida del ácido maleico y N-compuestos nitrogenados.

B. A. Kilman, quien descubrió dicho fenómeno, propuso denominar estos mutágenos como mutágenos de acción «retardada». Un gran número de experimentos han demostrado que al tratarse con estos mutágenos las plántulas de *Vicia* y *Crepis*, células del cultivo de tejido humano y otros objetos, efectivamente aparecen sólo modificaciones cromatídicas, las cuales surgen producto de la fijación de las variaciones potenciales con largo período de vida en la fase de síntesis del DNA.

VARIACIONES POTENCIALES DE LARGO PERÍODO DE VIDA CON UN PLAZO VARIABLE DE FIJACIÓN. El trabajo de N. P. Dubinin y L. G. Dubínina (1967) demostró, que la concepción de acción «retardada», la cual indica la fijación de las mutaciones en la fase de síntesis del DNA, no tiene un valor absoluto. Fue establecido, que el carácter de la acción de los mutágenos alquilantes y de otro tipo depende de las condiciones intracelulares, las cuales pueden variar los plazos de fijación de las mutaciones, es decir, poner en marcha el mecanismo de doble corte de los filamentos de DNA provocando las mutaciones de tipo cromosómico o asegurar que las variaciones potenciales sobrevivan hasta la fase de síntesis del DNA produciendo aberraciones cromatídicas. Así,

al someter a la acción de los agentes alquilantes, las semillas secas de *Crepis capillaris*, cuyas células se encuentran naturalmente sincronizadas en la fase G_1 y los cromosomas están representados por moléculas simples de DNA de espiral doble, se obtiene una mezcla de mutaciones constituida por variaciones cromatídicas y cromosómicas. Esto se atestigua también en otras plantas. Al tratarse las semillas de *Nigella damascena* con metansulfonato de etilo, se ha descubierto que todas las aberraciones se fijan dentro de los límites de la fase G_1. En este caso el mecanismo de doble corte de los cromosomas, por lo visto, actúa de una forma intensiva efectuándose la anulación completa de las variaciones potenciales para el momento de la síntesis del DNA.

Con el estudio de la duración de vida de las variaciones potenciales se han descubierto hechos verdaderamente interesantes. Esto resultó posible hacerlo en experimentos con semillas secas tratadas una vez con mutágenos. En estas semillas toda la población celular se encontraba en la fase G_1, por lo que su germinación en los diferentes plazos después del tratamiento daba la posibilidad de variar el tiempo que transcurría entre las fases G_1 y S. Resultó que en el transcurso de 5 meses de experimento las variaciones potenciales persistían y se fijaban en mutaciones sólo con la germinación de las semillas. La conservación de semillas secas tratadas con etilenimina aumenta el rendimiento medio de las mutaciones de tipo cromosómico lo que atestigua un incremento de la probabilidad de la fijación de las afecciones potenciales en la fase G_1 y el desarrollo en éstas de los fenómenos de mutación de resonancia, es decir, manifiesta el paso de la afección a la matriz complementaria en el sistema de la molécula de DNA en reposo.

En estos experimentos fue descubierto un tipo nuevo de principio de cinética del proceso mutacional. En el transcurso de 5 meses de mantenimiento de las semillas se observó un carácter sinusoidal en el rendimiento de las mutaciones según diferentes períodos de conservación completamente determinados (fig. 271). La variación regular en los niveles de rendimiento de las mutaciones puede ser producto de control del metabolismo general de las células sobre el proceso mutacional. Las caídas en la frecuencia de mutación pueden ser condicionadas por los procesos de restitución. Semejante manifestación de la forma ondulada de las mutaciones en el transcurso de largos períodos de tiempo después del tratamiento con un mutágeno se ha registrado en experimentos con células hepatocitos tratadas con dipina.

Los hepatocitos se encuentran en la fase G_0 sin intervenir en el ciclo celular. Sin embargo, después de una hepatotomía parcial éstos entran en la mitosis en una forma sincronizada pasando al mismo tiempo la fase G_1 y la de síntesis del DNA. Estas particularidades hacen de estas células un modelo cómodo para el análisis de la acción posterior a la influencia del mutágeno sobre las célu-

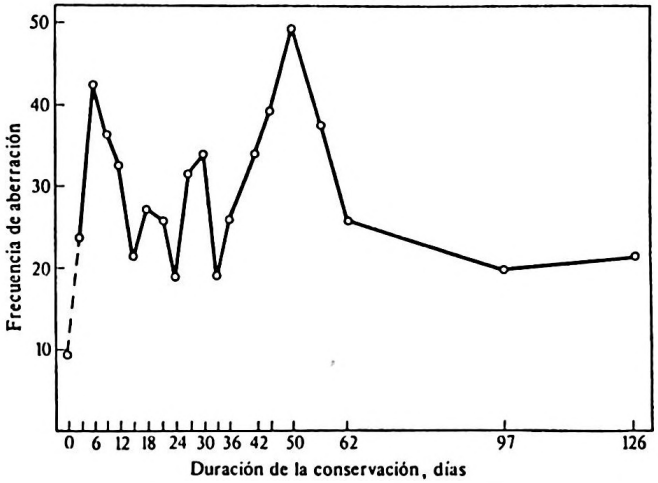


Fig. 271. Variaciones potenciales longevos en las células de las semillas secas de *Crepis capillaris*, después de ser tratadas éstas una sola vez con etilenimina (concentración $9{,}3 \times 10^{-3}$ M)

Curva de cambios ondulatorios de la frecuencia de las aberraciones en la conservación después del tratamiento con mutágeno

las tratadas con éste en los diferentes períodos antes de la fase *S*. En este caso se ha establecido el cuadro de desarrollo del número de aberraciones hasta su valor máximo y su posterior caída. Finalmente es de importancia principal destacar el hecho de que después de 300 horas de haber aplicado el mutágeno tuvo lugar una reparación completa de todas las variaciones potenciales. Para aquellos momentos la frecuencia de mutación no excedía su nivel en el control.

Los hechos expuestos demuestran que en el marco de un ciclo celular las afecciones potenciales de los cromosomas representan una amplia etapa. Estas variaciones se modifican perfectamente por diferentes condiciones intracelulares. Con respecto a las bases moleculares de las lesiones potenciales de larga duración resulta difícil definir algo con precisión. El estado N_7-alquilado de guanina puede conservarse decenas de horas, pero es muy poco probable que esto pueda servir de base a toda la especificidad de las variaciones potenciales prolongadas.

VARIACIONES POTENCIALES GÉNICAS Y ABERRACIONES CROMOSÓMICAS QUE SE DUPLICAN PASANDO A TRAVÉS DE UNA SERIE DE SÍNTESIS DEL DNA. Estas variaciones pasan a través de las generaciones celulares en forma oculta transmitiéndose a la matriz de DNA

que se sintetiza. Como demostración de la existencia de este fenómeno podemos citar la aparición de mutaciones génicas y aberraciones cromosómicas pasados varios ciclos de duplicación de DNA al haberse tratado una vez con mutágeno. Para las aberraciones cromosómicas en un cultivo de células de mamíferos y en células somáticas vegetales, se ha comprobado que este tipo de variaciones replicativas potenciales se provoca por la acción de compuestos alquilantes. En los espermatozoides y embriones de peces estas variaciones son inducidas por radiaciones ionizantes.

En muchos objetos (aberraciones cromosómicas, mutaciones en las bacterias y los fagos) se ha demostrado, que la curva de frecuencia de mutación asciende suavemente de división en división, alcanza su máximo y después también de una forma suave desciende. La trayectoria de la curva atestigua el carácter del proceso mutacional en cadena. Por primera vez esta curva con el máximo fue descrita por Demerec en 1946.

En 1952 P. Koller y A. Casarini describieron la curva característica de crecimiento del número de aberraciones de cromosomas en las células de carcinosarcoma de Waker después de una inyección a ratas, de un análogo nitroso de la iperita HN_2. La duración de la reacción mutagénica fue grande; a las 168 horas después del tratamiento con mutágeno, la cantidad de aberraciones era todavía mucho mayor que el control (fig. 272). Incluso sin tener concepciones modernas sobre el carácter del ciclo celular se podía suponer claramente que las mutaciones de los cromosomas aparecen en el transcurso de dos o tres generaciones celulares por lo menos. Los autores lamentablemente no prestaron atención a este hecho de gran significación.

M. Buiatti y B. Ronchi (1964), utilizando la metodología del crecimiento de las radículas de *Vicia faba* en colquicina tratadas con trietilenmelamina, demostraron que en las células tetraploides, es decir, en la segunda mitosis, aparecen aberraciones nuevas de tipo cromatídico. La causa de esto podría ser las afecciones potenciales que pasaron a la siguiente mitosis fijándose en mutaciones. G. Ivens y D. Scott (1964), B. N. Sídorov y otros (1965) confirmaron este descubrimiento observando la aparición de nuevas aberraciones incluso en la quinta generación celular.

En un trabajo con trietilenimida de ácido tiofosfórico (tio-FTE) sobre fibroblastos embrionarios en cultivos de tejidos, N. P. Dubinin y E. G. Sapríquina (1964) obtuvieron la curva de la dinámica del paso de las variaciones potenciales a mutaciones. Fue demostrado el crecimiento de la cantidad de aberraciones cromosómicas en el transcurso de dos ciclos de divisiones celulares a raíz de un tratamiento con trietilenimida de ácido tiofosfórico (figs. 273 y 274). A las 24 horas se observó el aumento de las mutaciones tanto en las células marcadas como en las sin marcar. La distribución de la marca de la timidina-H^3 por las cromátidas demostró que las mutaciones surgían en gran cantidad en las célu-

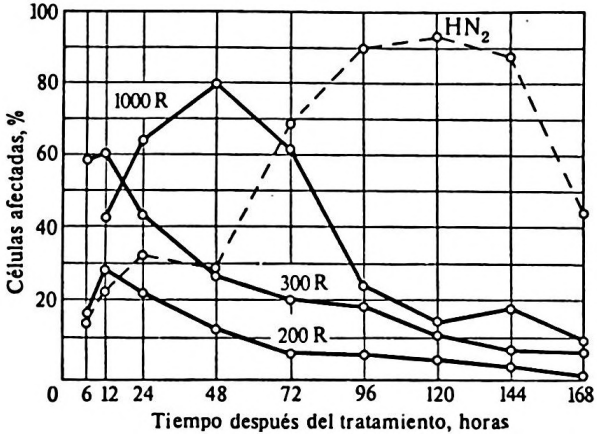


Fig. 272. Frecuencia de aberraciones de los cromosomas en las células cancerosas después del tratamiento con rayos X e iperita (HN_2)

Bajo la acción de la iperita tiene lugar la aparición prolongada de mutaciones

las que entraban en la segunda mitosis. El carácter de la curva total, la cual describe el crecimiento y la disminución del número de aberraciones después de un tratamiento con mutágeno, permitió exponer la hipótesis del proceso en cadena en la mutagénesis química. En este caso, al igual que para las reacciones químicas en cadena, al principio el aumento del coeficiente de probabilidad de paso de las variaciones potenciales a mutaciones es mayor que la unidad, lo que permite un ascenso en la curva de mutabilidad, y posteriormente, pasado algún tiempo tienen más ventajas aquellos procesos que conllevan a la disminución de esta probabilidad y el coeficiente de aparición de las mutaciones llega a ser menor que la unidad.

A. P. Akifiev y otros (1965) obtuvieron un cuadro análogo de mutación de cromosoma en las células de fibroblastos *L* trasplantados de ratón, donde el efecto mutacional posterior llegó a abarcar 5—6 generaciones (fig. 275). En el trabajo con el cultivo humano trasplantado, se observó el aumento de la cantidad de mutaciones de cromosomas durante 10 días después de un tratamiento con la etilenimina.

D. D. Romashov y B. N. Beliáeva (1966) descubrieron que al someter a la irradiación los espermatozoides de los peces, las mutaciones de cromosomas aparecen en el transcurso de desarrollo prolongado, incluso hasta el estadio de larvas salidas de huevos. En este período pasan no menos de 20 generaciones celulares. La comparación entre los efectos de los rayos X y el tio-FTE presentó un cuadro idéntico de mutagénesis prolongada. En todos estos casos es indiscutible el paso de las variaciones potenciales a través

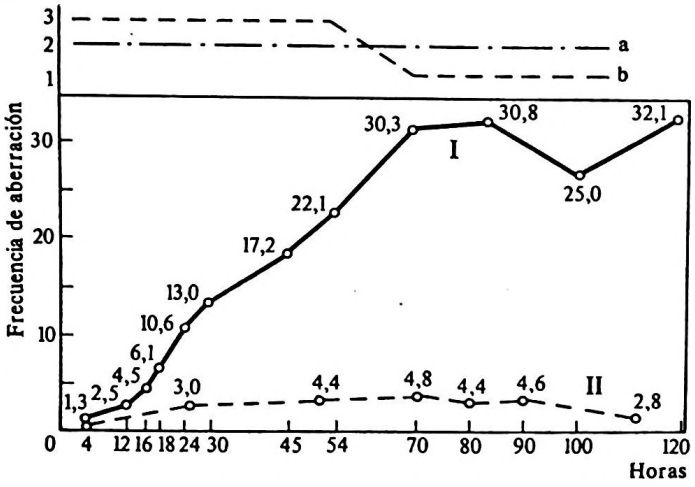


Fig. 273. Mutaciones prolongadas en el cultivo de fibroblastos humanos después de un tratamiento con tio-FTE

a—índice mitótico en el control; *b*—en el experimento ($5 \cdot 10^{-6}$ M); I—mutabilidad a una concentración de $5 \cdot 10^{-6}$ M; II—lo mismo a una concentración $5 \cdot 10^{-7}$ M

de los procesos de autorreproducción de los cromosomas. En lo que concierne a las variaciones potenciales que producen el alargamiento de la mutagénesis en las mutaciones génicas, Ch. Auerbach y J. Robson (1946), en sus primeros experimentos relacionados con la acción de la iperita demostraron que después del tratamiento de

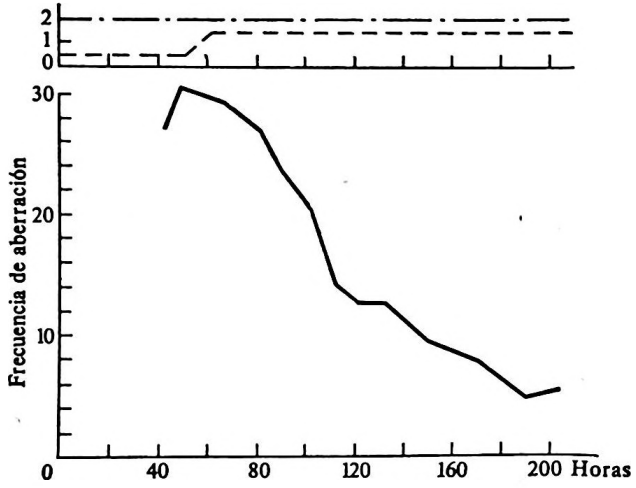


Fig. 274. Segunda parte de la curva mostrada en la fig. 273

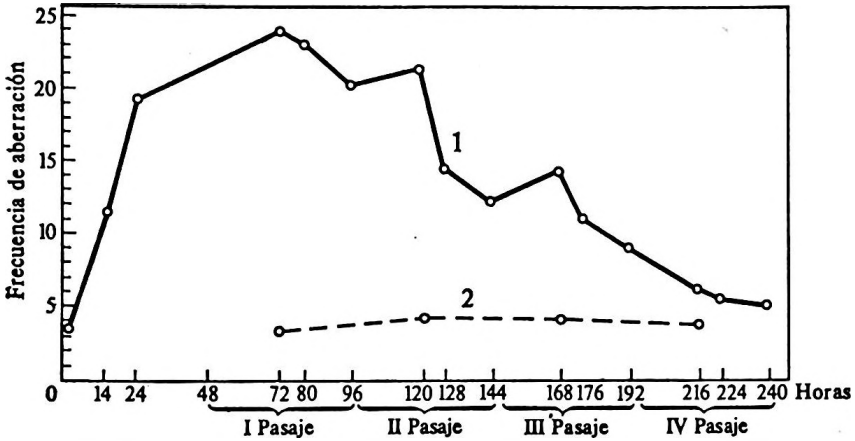


Fig. 275. Proceso en cadena de la mutagénesis en el proceso de la formación de aberraciones de cromosomas en una serie de generaciones celulares en el cultivo de α-fibroblastos del ratón

1—tratamiento con etilenimina; *2*—control

los espermatozoides de *Drosophila*, aparecían mutaciones en diferentes estadios de desarrollo del individuo e incluso en la segunda generación de moscas. Este fenómeno se ha establecido para las mutaciones visibles, letales y recesivas, ligadas al sexo. En este caso, después de un tratamiento con mutágenos, aparecen las mutaciones al cabo de decenas de generaciones celulares, incluso después de dos fecundaciones.

A. Nasim (1967) investigó este fenómeno con detalle en la levadura bajo la acción de una serie de mutágenos alquilantes y otros. Investigó el fenómeno de mosaísmo de las colonias para mutaciones de 5 loci. En este caso, el mecanismo de inestabilidad es análogo al establecido para la *Drosophila*, además ésta se restringe a las regiones estrechas de cromosomas. En el trabajo de N. P. Dubinin y sus colaboradores (1973) quedó demostrado, que la inestabilidad replicativa en la levadura, después de un tratamiento de las células con rayos ultravioletas, continuaba provocando mutaciones en el locus de adenina a lo largo de todas las 340 generaciones de células estudiadas.

La cuestión de la mutagénesis prolongada se discute hace mucho tiempo en la Genética de las bacterias. Como se mencionó anteriormente, este fenómeno fue descubierto por M. Demerec en 1946. D. Green y D. Krieg (1961) en experimentos sobre tratamiento extracelular del fago con metanosulfonato de etilo observaron que las mutaciones surgen después de la primera, segunda y siguientes duplicaciones del fago. Si se introduce en una misma célula, partículas de fago tratadas con mutágenos y sin tratar,

se estableció que sólo aparecen mutaciones en la primera. Si no se hubiera tratado de las variaciones potenciales de las moléculas de DNA del fago, sino de la introducción de mutágeno con partículas de fago en la célula bacteriana, entonces ambas clases de partículas de fago hubieran sufrido el efecto mutagénico. A. S. Kriviski (1965) en investigaciones sobre la influencia de los rayos ultravioletas sobre las mutaciones de fago, descubrió el fenómeno de mutagénesis prolongada y excluyó todas las posibilidades excepto la presencia de variaciones potenciales que producen retardo en la aparición de mutaciones.

De lo dicho anteriormente se deduce, que se da una amplia significación a la concepción de variación potencial. Este concepto se refiere tanto a las mutaciones génicas como a las aberraciones cromosómicas. Como hemos visto, los mecanismos moleculares conocidos hasta ahora de la aparición de dichas variaciones se caracterizan por una duración de vida relativamente corta. La cinética de transformación de las variaciones potenciales en mutaciones se mide por diferentes intervalos de tiempo, desde fracciones de segundo hasta horas, y varias síntesis del DNA. Las explicaciones actuales que se dan a la esencia de las mutaciones, no se refieren a fundamentos físico-químicos que puedan proporcionar una aclaración completa de los procesos relacionados con la vida de las variaciones potenciales.

Una intervención en la fase de variaciones potenciales puede resultar muy significativa en el problema del control sobre la mutagénesis. Por el momento queda ignorado: ¿En qué forma y de acuerdo con qué leyes se desarrolla la vida de las variaciones potenciales de los genes y cromosomas en el hombre? En esta cuestión se nos plantean grandes tareas a resolver. No caben dudas de que el problema esencial de cómo los hechos moleculares, que se producen en el DNA, pasan a través de las variaciones potenciales al nivel de la estructura, funciones y autorreproducción de cromosomas, es uno de los grandes caminos del futuro desarrollo de la Genética.

Preguntas para discutir

19-1. Caracterice las clases fundamentales de los mutágenos químicos.

19-2. ¿En qué consiste la esencia de la acción de los compuestos alquilantes al inducir el efecto mutagénico?

19-3. ¿Qué ejemplos se conocen del efecto mutagénico de los radicales libres?

19-4. ¿En qué consiste el fenómeno de la especificidad en la mutagénesis química? ¿Qué significa especificidad regional e intergénica?

19-5. ¿Qué produce la acción combinada de diferentes mutágenos?

19-6. ¿En qué consiste la diferencia entre los mutágenos con efecto «retardado» y «no retardado»?

19-7. ¿En qué fases del ciclo celular y cómo actúan los compuestos alquilantes?

19-8. ¿Actúan los compuestos alquilantes sobre el cromosoma solamente durante la síntesis del DNA o la molécula del DNA formada también es blanco de estos mutágenos?

19-9. ¿Qué representa el efecto mutagénico posterior que se difunde en una serie de generaciones celulares?

19-10. Caracterice la hipótesis de la mutación en cadena, a base de los datos acerca de la mutagénesis química en el cultivo de fibroblastos humanos y en los experimentos con cepas de las células *L* en ratones?

19-11. ¿Cuáles son las características de las variaciones potenciales que surgen en el tratamiento de semillas secas de plantas con compuestos alquilantes?

19-12. ¿Qué se comprende bajo la inestabilidad génica replicativa que surge debido a la acción de compuestos alquilantes y preparados del DNA?

19-13. ¿En qué consisten los principios fundamentales de la hipótesis sobre la mutagénesis de resonancia?

19-14. Caracterice las principales categorías de las afecciones premutacionales (potenciales) en el cromosoma.

19-15. ¿Qué relación existe entre las afecciones primarias de los cromosomas y el trabajo de los fermentos reparativos?

19-16. ¿En qué consiste la hipótesis de corrección aplicada a la cuestión sobre la aparición de mutaciones completas? ¿Se puede vincular este fenómeno con la acción de las enzimas de reparación en oscuridad?

19-17. ¿Surge o no el fenómeno de inestabilidad replicativa bajo la acción de rayos ionizantes y ultravioletas?

19-18. ¿En qué ejemplo se demuestra que la inestabilidad replicativa surgió a través de 340 generaciones celulares después del tratamiento de células iniciales con mutágenos?

XX Bases moleculares del fenómeno de las mutaciones y problema de la mutación dirigida

Los principios moleculares para el fenómeno de las mutaciones génicas, fueron establecidos por J. Watson, F. Crick, E. Freese y otros autores. La base del mecanismo molecular de las mutaciones consiste, en que las mutaciones del material genético surgen como consecuencia de múltiples transformaciones químicas en determinados segmentos de la molécula de DNA. Todas estas mutaciones puntuales varían el código genético que caracteriza un gene en cuestión, ya que el código normal adaptativo del gene se determina por la secuencia de nucleótidos históricamente formadas en el marco de cada gene. La aparición de tripletos terminales interrumpen la lectura de la información dentro del gene provocando la aparición de fragmentos, en la cadena polipeptídica.

En la lectura del código aparecen grandes alteraciones por las pérdidas o inserciones de las bases. En este caso la lectura del código del gene en general, varía después del lugar de la mutación puntual. La sustitución de algunos de los nucleótidos varía el código en el marco de un codón. Esto conlleva a la inserción de un aminoácido variado en el polipéptido. Al parecer, este tipo de mutación puntual debe reconocerse como la más importante para la evolución. En la fig. 276 se encuentran representados los tipos principales de mutaciones puntuales. La fig. 277 ilustra la presencia de deleción al nivel molecular.

Las mutaciones puntuales pueden ser representadas por tres clases, de acuerdo con la influencia de éstas sobre el carácter de los polipéptidos codificados.

1. Las mutaciones *missense* surgen al ocurrir la sustitución de un nucleótido dentro del codón. Esto conlleva a la intercalación en un lugar determinado de la cadena polipeptídica de un aminoácido erróneo. El rol fisiológico de la proteína varía, abriendo el campo de acción para la selección natural. Esta es la clase funda-

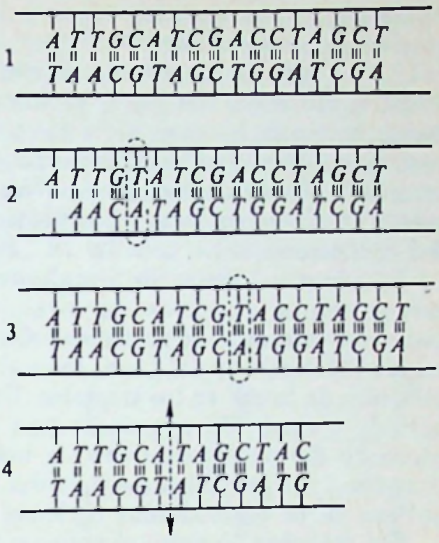


Fig. 276. Tres clases fundamentales de mutaciones

1—secuencia de pares de bases en la estructura normal del gene; *2*—sustitución de un par de bases *C—G* por el par *A—T*; *3*—inserción del par de bases *T—A*; *4*—deleción del bloque de 6 pares de bases *T—A*, *C—G*, *G—C*, *A—T*, *G—C*, *G—C*

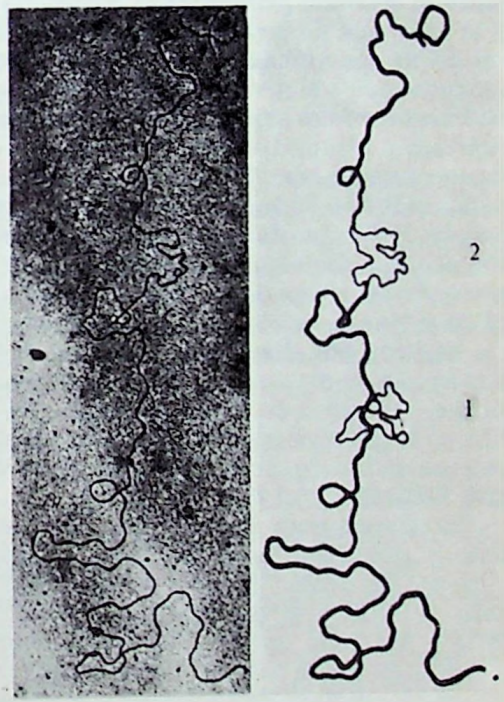


Fig. 277. Microfotografía electrónica (a la izquierda) y esquema (a la derecha) del heterodúplex surgido en la hibridación molecular de moléculas de DNA de un filamento de dos cepas de fago lambda. La deleción en el filamento de una de las cepas (según Westmoreland, Szybalski y Ris, 1969)

mental de mutaciones génicas puntuales. Las mutaciones *missense* aparecen en la mutagénesis espontánea bajo la acción de radiaciones y mutágenos químicos.

2. Las mutaciones *nonsense* consisten en la aparición de codones terminales dentro del gene, producto de la variación de algunas bases dentro de los marcos de los codones. Como resultado el proceso de traslación se interrumpe en el lugar de aparición del codón terminal. En este caso el gene resulta capaz de codificar solamente los fragmentos del polipéptido hasta el lugar de aparición del codón terminal.

3. Las mutaciones de desplazamiento del marco de lectura, surgen con la aparición de inserciones y deleciones dentro del gene. En este caso, a partir del site cambiado varía todo el contenido informativo del gene, lo cual se ofrece con una nueva combinación de letras en los tripletes. Puesto que éstos después de una pérdida o inserción adquieren una nueva composición de letras, producto del desplazamiento en una base. Como resultado, toda la cadena polipeptídica después del lugar de la mutación puntual, obtiene otros aminoácidos erróneos.

Sin embargo, incluso al conocer los sucesos moleculares fundamentales que conllevan a las variaciones de las moléculas de DNA resulta muy difícil establecer la secuencia de los hechos ocurridos entre la reacción primaria del mutágeno con la molécula de DNA y la aparición de un fenotipo mutante o de una variación estructural de un cromosoma apreciable en la mitosis. En la actualidad este paso desde el nivel de afecciones moleculares del material genético hasta niveles supermoleculares microscópicos o más superiores, representa el apartado más importante e interesante de la teoría de la mutagénesis.

La reacción de la alquilación de los grupos de fosfato en la molécula de DNA, puede provocar la ruptura del enlace entre el carbohidrato y el fosfato. Esta es la causa de aberraciones cromosómicas o de un efecto letal. En la acción de compuestos alquilantes es importante la alquilación en el séptimo átomo de nitrógeno. De acuerdo con Lawley y Brookes el grado de alquilación disminuye en el siguiente orden: N—7 guanina $>$ N—3 adenina $>$ $>$ N—1 adenina $>$ N—1 citosina. De esta manera los átomos libres de nitrógeno que no están incluidos en la formación de enlaces de hidrógeno cercanos al grupo de fosfato, se alquilan con más facilidad.

El tratamiento con agentes metilantes (metanosulfonato de etilo y dimetilsulfato), produce una rápida metilación de bases púricas. La acción de agentes etilantes (etilenimina, etanosulfonato de etilo y otros) produce la esterificación de los grupos de fosfato del gene igualmente rápida, como con el uso de agentes metilantes. En el caso de los compuestos bifuncionales tales como: las iperitas sulfurosas y nitrosas aparece un efecto citotóxico visible. Estos compuestos frecuentemente «cosen» dos filamentos de DNA.

Para la comprensión de los procesos que conducen a la aparición de las mutaciones en las moléculas formadas de DNA, es importante el conocimiento de las formas tautómeras de las bases nitrogenadas, que surgen bajo la acción de los mutágenos. Así, los tautómeros de adenina y uracilo se diferencian por la posición del átomo de hidrógeno. El paso del hidrógeno varía la posición de los electrones de tal forma que algunos enlaces se hacen univalentes y otros bivalentes (fig. 278). La frecuencia de aparición de los tautómeros depende de una serie de condiciones, incluyendo el grado de acidez en la célula. El estudio de la esencia de las reacciones entre los mutágenos químicos y las moléculas de DNA,

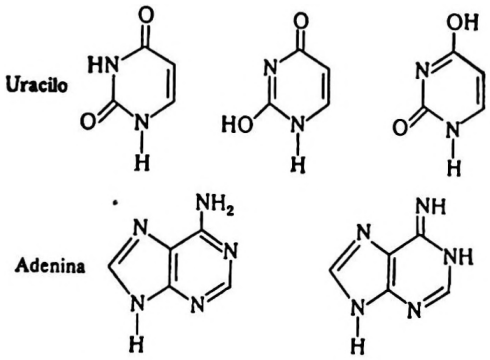


Fig. 278. Tautómeros de uracilo y adenina

aclaró el conocimiento de los mecanismos moleculares de las mutaciones. En primer orden, esto concierne a la reacción de las moléculas de DNA con los siguientes grupos de mutágenos: los análogos de las bases nitrogenadas, el ácido nitroso, la hidroxilamina, compuestos alquilantes y colorantes. Este análisis demostró que existen dos tipos fundamentales de mutaciones de acuerdo con el método de su origen; la transformación de las moléculas de DNA formadas, es decir, en las fases G_1, G_2 y M del ciclo celular y en el momento de la reproducción de los genes, es decir, en el tiempo de la autorreproducción de los cromosomas, en la fase S del ciclo celular.

BASES MOLECULARES DE LAS MUTACIONES EN EL CASO DE LA APARICIÓN DE AFECCIONES PRIMARIAS DE LAS MOLÉCULAS DE DNA FORMADAS. La mutagenicidad de los compuestos alquilantes está relacionada con la adición de los grupos alquilos (CH_3, C_2H_5, etc.) a la estructura de DNA. La reacción de alquilación se produce por la sustitución de átomos de hidrógeno (I) o a través de la unión del radical alquil (II)

$$\text{I}\ R-H+HCH_3-CH_2-R_1 \rightarrow R-CH_2-CH_3+R_1H,$$

$$\text{II}\ NR_3+\overset{CH_2-CH_2}{\overset{\diagdown\ \diagup}{NH}} \rightarrow NH_2-CH_2-CH_2-CH_2N+R_3.$$

La velocidad de ambas reacciones se determina por las características químicas de las agrupaciones nucleofílicas y por la concentración de los iones hidrógeno. Tomando en cuenta esto, en la estructura DNA, los de mayor reactividad son los fosfatos, los átomos de nitrógeno del anillo púrico, citosina y los aminogrupos de purinas. La aparición de un tautómero puede variar el cuadro común de la formación de pares de bases. Frecuentemente la

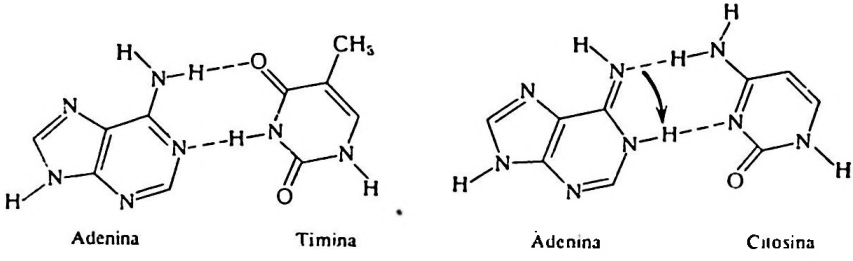


Fig. 279. Variaciones tautoméricas en la adenina que provocan la formación del par ilegal *A—C* en lugar del *A—T* (según J. Watson y F. Crick)

adenina y su aminotautómero producen un par con la timina, sin embargo, precisamente el tautómero de la adenina se une con la citosina, causa de esto es la variación de la posición de un hidrógeno (fig. 279). Por otra parte, el par A—C puede surgir debido al efecto de la iminotautomerización de *C*. De la misma forma las variaciones tautómeras de la timina y la guanina conllevan a la aparición de pares ilegales en la forma de *T—G*.

El surgimiento de pares ilegales en forma de *A—C* y *T—G* es de esperar al efectuarse un proceso de mutación espontánea y de la misma manera, bajo la acción de rayos ionizantes. Los mutágenos químicos también pueden variar algunas bases. Por ejemplo, el ácido nitroso (HNO_2) expulsa un aminogrupo de purinas y pirimidinas de DNA y RNA, sustituyéndolos por cetonas. Después de este tipo de desaminación, la adenina pasa a ser hipoxantina, la cual no se une en parejas con la timina, cosa característica de la adenina, sino con la citosina. La citosina se convierte en uracilo, el cual no produce un par con la guanina, sino con la adenina. Al concluir, la guanina se transforma en xantina, la cual continúa dando un par con la citosina, pero ya solamente al existir dos enlaces de hidrógeno en lugar de tres.

La aparición en la cadena de DNA de una base desaminada que posee la capacidad de formar pares ilegales, conlleva después de

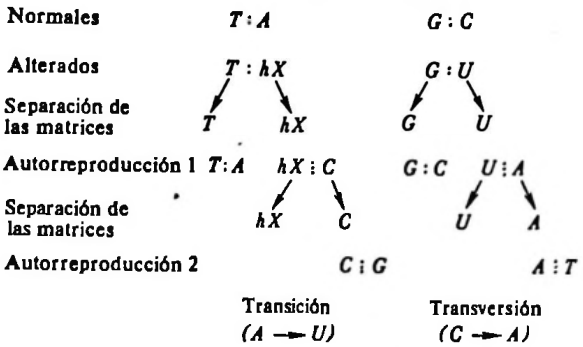


Fig. 280. Sucesión de los acontecimientos en la transición bajo la influencia de hipoxantina (*hX*)

la autorreproducción al surgimiento de cambios químicos estables en la estructura del gene.

Con la desaminación ácida, el ácido nitroso transforma en la molécula de DNA la adenina en hipoxantina (*hX*), la cual es complementaria a la citosina; esta última, en uracilo, el cual es complementario y la adenina; la guanina, en xantina la cual es complementaria a la citosina.

Estas moléculas variadas de DNA en reposo adquieren la capacidad de producir sustituciones de ambas bases en la molécula de doble espiral después de llevada a cabo la duplicación de DNA. Al separarse en matrices el heterodúplex $hX—T$, cada una de las mismas forma su estructura de DNA (fig. 280).

La matriz con timina produce un par de bases $T — A$ asegurando en todas las generaciones posteriores la reproducción de la estructura original normal $T — A$. En lo que respecta a la base hX, ésta forma un par $hX — C$. En la siguiente generación, la matriz con C, garantiza la aparición de un par de bases $G — C$. Como resultado, la pareja inicial adenina—timina resulta sustituida por el par citosina—guanina. Observamos el fenómeno de la transición, ya que la purina A resultó sustituida por otra purina G. La guanina reemplazó a la adenina en su posición inicial ($A \rightarrow \rightarrow hX \rightarrow G$). En el segundo caso (parte derecha de la fig. 280), se demuestra la transformación de la citosina en uracilo. A consecuencia de que la matriz «U» es complementaria a la adenina, su duplicación produce la aparición del par uracilo—adenina. En este caso, el lugar de la citosina (purina) lo ocupó una adenina (pirimidina). Volvemos a presenciar el fenómeno de transición ($C \rightarrow U \rightarrow A$).

Las condiciones de bajo valor de pH conllevan a la depurinización del ácido nucleico, cosa que se muestra en los experimentos con DNA del fago *T4*. En un medio ácido, ocurre la expulsión de adeninas y guaninas de la molécula de DNA. Al regresar el DNA

depurinizado a las condiciones normales, se puede observar un restablecimiento, aunque incompleto. Algunas purinas se pierden y otros son sustituidas.

Los compuestos alquilantes producen una serie de variaciones en la molécula de DNA. Entre éstas resulta de interés la acción de dichos compuestos sobre la guanina, lo que puede provocar el desprendimiento de esta última de la cadena de polinucleótidos en la molécula de DNA en reposo. La brecha que se forma permite aceptar cualquier base. Al duplicarse tales heterodúplex surgen mutaciones. Así si en la brecha se incluye una adenina, surge un heterodúplex $C — A$. Después de la duplicación en la mitad de

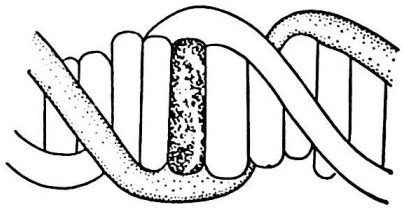


Fig. 281. Inserción de la molécula de acrinina (disco negro) entre los nucleótidos en la espiral de DNA

los descendientes, el par $G — C$ será sustituido por el par $A — T$ (transición). Con la introducción de la guanina se restablece la estructura inicial en forma de par $G — C$. En el caso de la inclusión de la timina en lugar del par $G — C$ aparecerá el par $T — A$ (transición). Finalmente, con la inserción de la citosina tendremos un heterodúplex $C — C$. Para el filamento que tiene la citosina, en un codón ocurrirá la sustitución de una purina por otra, es decir, G será cambiada por C (transversión).

Una categoría especial de variaciones en las moléculas de DNA formadas, está relacionada con la síntesis parcial replicativa y con los procesos de recombinaciones. Magni y Borstel (1962), realizando experimentos con levadura, demostraron que la frecuencia de estas mutaciones durante la meiosis, cuando se desarrollan los procesos recombinatorios, en la base de entrecruzamientos, aumenta 6—12 veces.

En 1961 Lerman analizando las características físico-químicas de interacción de las acridinas con el DNA, demostró que éstas se introducen en la molécula en reposo de cadena doble. Al penetrar en una de las cadenas de la molécula doble de DNA entre dos nucleótidos, la proflavina aumenta dos veces la distancia entre los nucleótidos dados (fig. 281). Al duplicarse la molécula de DNA, o en los procesos de entrecruzamiento, esta posición de la proflavina conlleva a la formación de una deleción y una inserción de uno o varios pares de nucleótidos.

BASES MOLECULARES DE LAS MUTACIONES Y PROCESOS DE AUTORRERPRODUCCIÓN DE LA MOLÉCULA DE DNA. La cuestión de la inclusión de bases ilegales en una molécula de DNA durante el proceso de su autorreproducción ha sido estudiada de una forma pormenorizada con ayuda de los análogos de las bases. Estos últimos se incluyen en las moléculas de DNA en el proceso de la autorreproducción de éstas sustituyendo algunas de las bases normales de la molécula. Los análogos de las bases, por ejemplo, 5-bromuracilo (*BU*), 5-bromdesoxiuridina (análogo de la timina) y 2-aminopurina (análogo de la adenina) se diferencian de las bases naturales por la propiedad de formar enlaces de hidrógeno. Como la aparición de enlaces de hidrógeno juega un papel decisivo en la autorreproducción cuando se atraen las bases complementarias, los análogos de las bases en este proceso, cometen una mayor cantidad de errores que las bases normales.

Si un cultivo bacteriano se trata con un preparado de sulfamida el cual tiene la característica de reprimir la síntesis de la timina, y se le añade al mismo un análogo de la base *BU*, entonces este último se incluirá en la molécula de DNA de las bacterias durante el proceso de su multiplicación. De esta forma, en lugar de un par normal *A-T* surgen *A-BU*. Sin embargo, *BU* tiene una mayor probabilidad de unirse con la guanina (*G*). Por tanto, surge el par *G-BU* del cual a raíz de la autorreproducción del par *BU-G*, *G* conducirá a la aparición del par *G-C*. Así, gracias al efecto del análogo de las bases, el par de éstas *A-T*, que es característico de la molécula inicial de DNA, en la duplicación siguiente da la transición, sustituyéndose por el par *G-C* (fig. 282). Además, *BU* puede unirse con la guanina en el par *G-C*.

En este caso, la autorreproducción consecutiva suscitará la adhesión de la adenina, lo cual en un futuro asegurará la adición de la timina. Como resultado, el par inicial *G-C* será reemplazado por el par *A-T*. De esta forma, *BU*, que es capaz de unirse con las

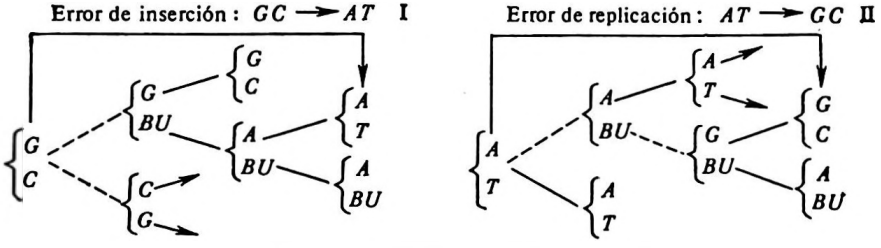


Fig. 282. Inducción de la transición con 5-bromuracilo (*BU*)
I—error de inserción: *GC → AT*; *II*—error de réplica: *AT → GC*

purinas y las pirimidinas, sustituye tanto a las purinas como a las pirimidinas en la molécula de DNA.

MECANISMOS MOLECULARES DE LAS MUTACIONES INVERSAS. El mecanismo molecular de las transversiones y las transiciones fue comprobado con ayuda del test de mutaciones inversas. Estas últimas deben basarse en la variación inversa en la estructura molecular del gene que puede representarse a través de los mecanismos moleculares de acción de los mutágenos. En realidad, como *BU* y el HNO_2 suscitan las transiciones en ambas direcciones, estos mutágenos deben suscitar mutaciones inversas. La hidroxilamina provoca las transiciones en un sentido, por eso no debe provocar variaciones inversas entre las mutaciones inducidas por su acción. Sin embargo, parte de las mutaciones suscitadas por *BU* y el HNO_2 deben transformarse en dirección contraria bajo la acción de la hidroxilamina. Las mutaciones provocadas por la pérdida de la guanina y que están relacionadas con la aparición de las transversiones y transiciones, deben dar variaciones inversas bajo la influencia del mismo mutágeno. El *BU*, el HNO_2 y la hidroxilamina deben provocar una mutación inversa sólo en la parte correspondiente de estos mutantes. Experimentos especiales realizados en el fago *T4* sobre mutaciones en la región *r*II, demostraron la certeza de todas estas ideas (tabla 24).

BASES MOLECULARES DE LA ACCIÓN DE ISÓTOPOS RADIACTIVOS Y RADIACIONES IONIZANTES. La naturaleza de las variaciones moleculares en la molécula de DNA inducidas por la acción de rayos ionizantes, ha sido estudiada mucho menos en comparación con las consecuencias moleculares de los mutágenos químicos. Para la acción de las radiaciones sobre las moléculas de DNA, es característica la

Tabla 24

Mutaciones inversas en el locus rII del fago T4 inducidas por la acción de diferentes mutágenos químicos

El mutágeno en la obtención inicial de los mutágenos	Frecuencia de mutaciones inversas inducidas por la acción de mutágenos			
	5-bromuracilo	ácido nitroso	hidroxilamina	etiletan sulfonato
5-bromuracilo	+	++	—	—
Acido nitroso	+	++		
Hidroxilamina	+		—	
Etanosulfonato de etilo	+			+—

Observación. ++ frecuencia de mutaciones alrededor del 100%;
+ alta frecuencia;
+— baja mutabilidad;
— casi no hay mutaciones.

aparición de 5 tipos de lesiones: 1) una desnaturalización parcial de la molécula de DNA como consecuencia de la alteración de

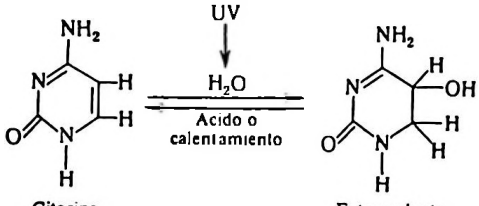


Fig. 283. Influencia de los rayos ultravioletas sobre la formación de hidratos de citosina

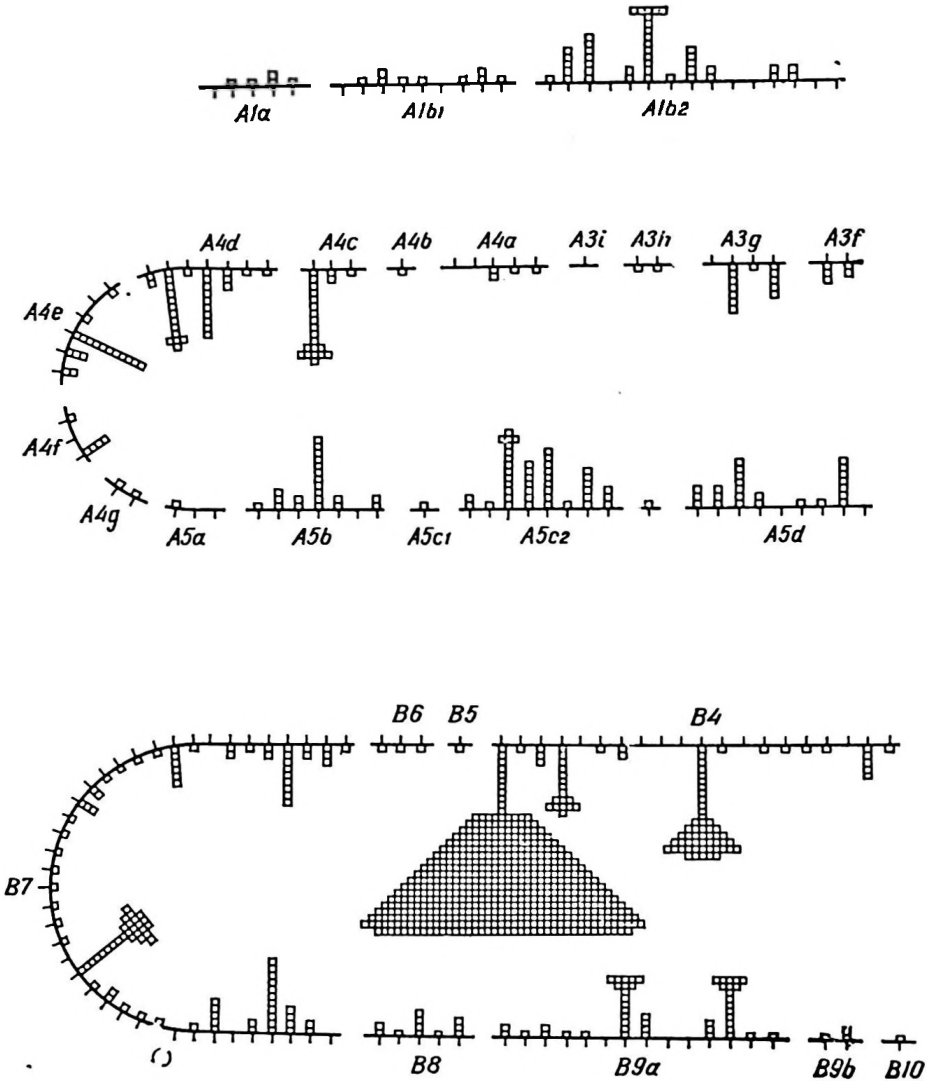
enlaces de hidrógeno; 2) ruptura de uno o de los dos filamentos de la molécula; 3) uniones intramoleculares e intermoleculares de DNA; 4) enlaces entre el DNA y la proteína; 5) destrucción de bases pirimídicas y púricas.

La acción mutagénica de radiaciones ionizantes frecuentemente está relacionada con la aparición de rupturas en el esqueleto del ácido nucleico. Así, si el fósforo radiactivo (P^{32}) se incorpora en lugar del fósforo normal a la molécula de DNA del fago *T2* la cual posee una estructura de doble espiral, se necesitan entonces alrededor de diez desintegraciones radiactivas, para que cada partícula esté inactivada. Sin embargo, para los fagos de DNA de cadena simple (ø X 174 y otros), se inactivan con una sola desintegración. Es natural, que la estructura de doble espiral es mucho más estable que la de DNA unifilamentoso pues la primera ruptura de un filamento en algún lugar, se compensa con la conservación de este segmento en otro filamento.

El mismo efecto lo producen distintos tipos de irradiaciones electromagnéticas de gran energía. Se ha demostrado que después del tratamiento de DNA de *E. coli* con rayos X, aparecen rupturas de uno o ambos filamentos en el esqueleto de la molécula de DNA. En algunas líneas de *E. coli*, las rupturas de un filamento pueden ser reparadas. Las roturas dobles no se reparan siendo la causa del efecto letal que se origina bajo la acción de irradiaciones ionizantes.

En la acción de irradiaciones ultravioletas, las cuales corresponden a los tipos no ionizantes de energía radiante, en general, se originan dímeros de bases pirimídicas e hidratos de citosina (fig. 283).

ACERCA DE LA ESPECIFICIDAD Y EL CARÁCTER DIRIGIDO DE LAS MUTACIONES QUÍMICAS INDUCIDAS. El objetivo de la Genética y una de las tareas más importantes de las Ciencias naturales de hoy, consiste en la elaboración de métodos de obtención dirigida de determinadas mutaciones. La resolución de este problema variará todos los fundamentos de la influencia del hombre sobre la vida.



Esta tarea puede ser resuelta, cosa que se demuestra por hechos que afirman el principio, el cual ahora puede enunciarse como sigue: la especificidad de las mutaciones depende de las particularidades del mutágeno utilizado. Por esto, en la actualidad la mayoría de los investigadores estiman, que precisamente los mutágenos químicos, con su gran variedad prácticamente inagotable, serán el instrumento principal en la obtención de las mutaciones dirigidas.

El análisis de las regularidades que rigen la mutagénesis espontánea y artificial ha demostrado, que cada mutación tiene su

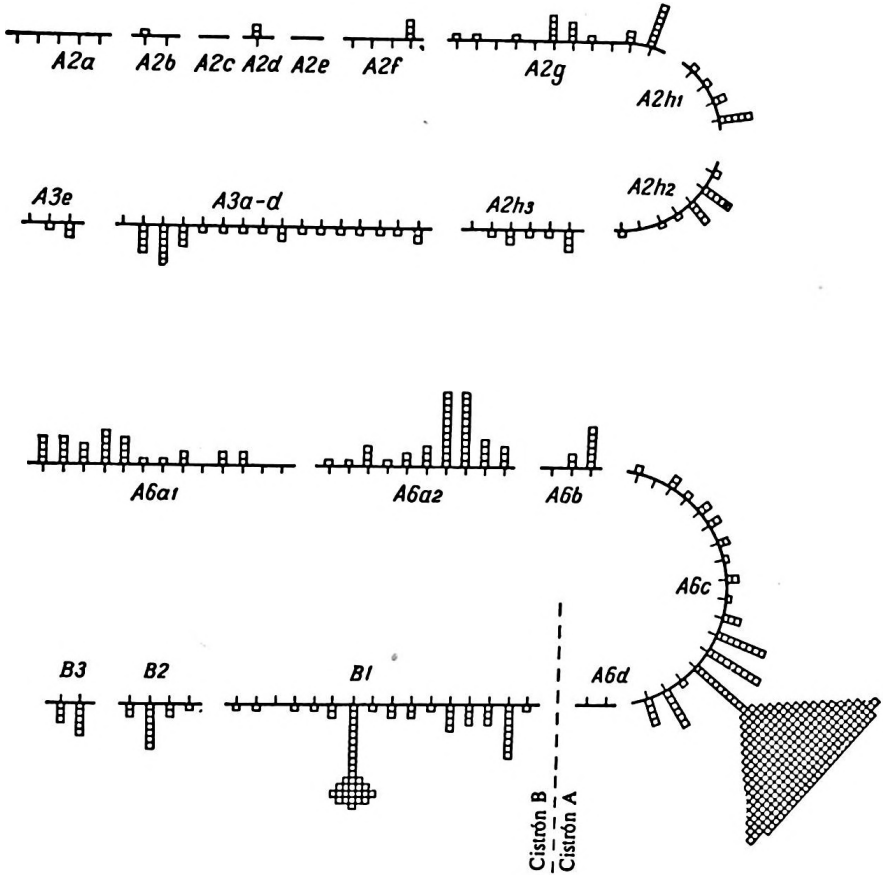


Fig. 284. Puntos calientes de mutabilidad en el mapa genético de la región *rII* en el bacteriófago *T4*

Localización de 1260 mutaciones espontáneas dentro de los cistrones *A* y *B*. En total en la región *rII* se conocen más de 300 sites. La mutabilidad máxima es característica de uno de los sites en la región *B*5—*B*4 en el cistrón *B* y de uno de los sites en la región *ABc*—*ABd* en el cistrón *A*

causa específica. Mutaciones sin causa no existen. Sin embargo, cuando analizamos él fenómeno de la mutabilidad en su conjunto, toda la masa de mutaciones se rige por leyes estadísticas. En la etapa actual de la teoría de las mutaciones, se puede predecir la aparición de una mutación, sin embargo, esta predicción se limita al conocimiento del orden de realización de una determinada probabilidad. Por ejemplo, se puede prever de antemano que la mutación de ojos blancos, en la *Drosophila* se produce como promedio en 1 por cada 100 000 individuos, la mutación de la hemofilia en el ser humano se manifiesta 1 por cada 33 000 personas, la mutación

del grano arrugado en el maíz es 1 por cada millón de gametos, etc.

¿Son acaso los procesos de aparición de mutaciones no dirigibles? Claro que no. En el ejemplo del gene *Dt* en el maíz hemos visto la tendencia específica del proceso de mutación espontánea, suscitado por el control de este gene sobre la mutación del gene *a*. En el estudio de la mutagénesis química se han descubierto hechos de mutabilidad específica cuando como se expuso anteriormente la reacción química entre el mutágeno y la molécula de DNA tiene un carácter bien dirigido. Se han proporcionado datos sobre la especificidad mutacional en la *Neurospora* en el caso de las mutaciones inversas del alelo $inos^-$ (alelo de deficiencia en el carbohidrato inosita) a su estado normal ($inos^+$), y también de alelo $aden^-$ (deficiencia en la base nitrogenada adenina) al alelo normal ($aden^+$).

Hemos observado, que bajo la acción del metanosulfonato de brometilo, la frecuencia de mutación de $aden^-$ a $aden^+$ es 3800 veces mayor que la de mutación del $inos^-$ al $inos^+$. Bajo la acción de rayos ultravioletas, las mutaciones de $inos^-$ a $inos^+$ son dos veces más frecuentes que las de $aden^-$ a $aden^+$, etc.

El problema de las mutaciones dirigidas será resuelto a través de investigaciones de la especificidad de la mutación y la acción de diferentes mutágenos químicos y valiéndose del análisis de las bases moleculares de la mutagénesis. Sin embargo, en el camino de la solución de este problema existen muchas dificultades. La más importante de ellas es la no especificidad química en la composición de los genes, ya que cada gene consta de las mismas cuatro bases nitrogenadas: adenina, timina, citosina y guanina ordenadas en distinta secuencia. Esto muestra, que mediante las reacciones químicas simples entre bases nitrogenadas y el mutágeno químico, el problema de las mutaciones dirigidas no puede ser resuelto. Sin embargo, se presentan hechos de las mutaciones específicas con la particularidad de que este fenómeno no concierne solamente a los genes enteros, sino que el estudio de la mutagénesis espontánea en la región *r*II del fago *T4* demostró la existencia de puntos «calientes», es decir, de alta mutabilidad para determinadas porciones del gene (fig. 284).

Todo lo anterior demuestra, que existen algunos sistemas en forma de sites dentro de los genes o genes enteros, los cuales «reconocen» a los mutágenos reaccionando con éstos. Por lo visto, el problema del sistema específico de la posición mútua del grupo de nucleótidos que es capaz de unirse con mutágeno será importante en la resolución del problema de las mutaciones dirigidas que es fundamental en la Biología moderna.

No obstante a lo mencionado ya en la etapa actual los hechos de mutaciones específicas son muy prometedores (fig. 285). Además de lo expuesto anteriormente, señalemos que bajo la acción de rayos γ en la *Vicia faba* la relación entre el número de rupturas en el cromosoma grande y su cantidad en los pequeños es de 5 : 2.

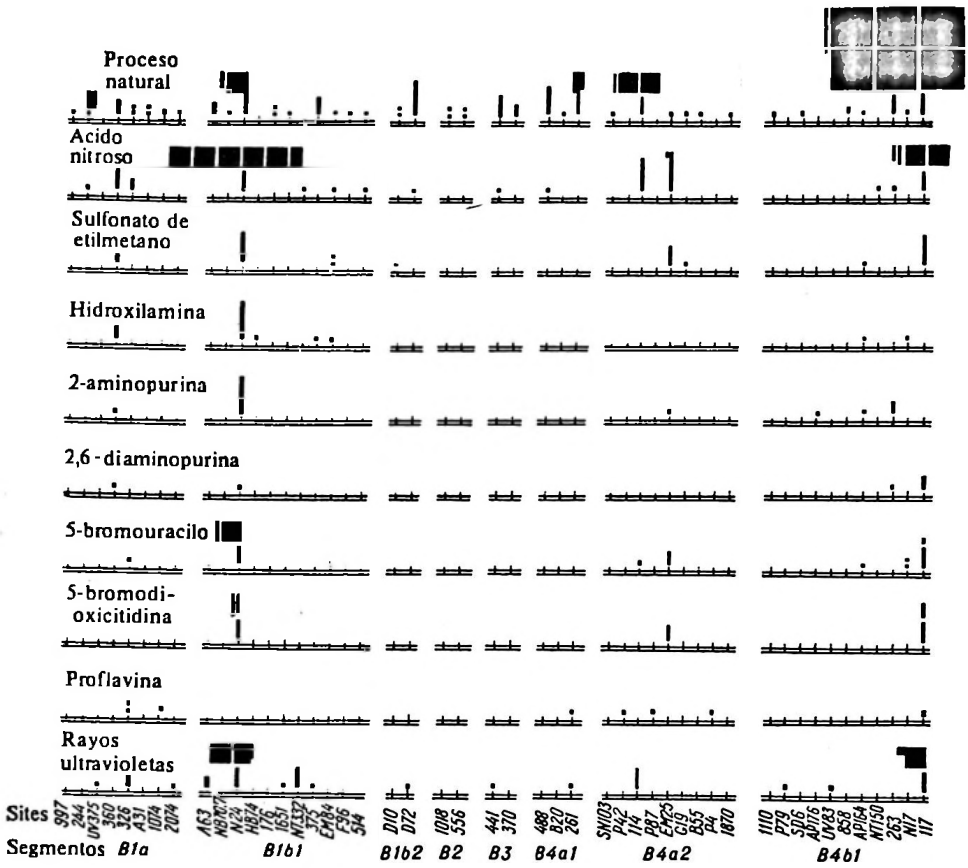


Fig. 285. Especificidad de la mutagénesis en diferentes sites del cistrón *B* en la región *rII* del fago *T4* bajo la acción de diferentes factores mutagénicos

En el tratamiento de las radículas con iperita, el cuadro varía notablemente. En este caso las rupturas se concentran dentro de los límites del cromosoma grande y las relaciones señaladas se expresan en forma de 50 : 2. Resultó que las rupturas se encuentran concentradas en las porciones de heterocromatina, situadas en la parte central del cromosoma grande. T. Hsu y C. Somers (1961) demostraron la diferencia en la distribución de las rupturas a lo largo de los cromosomas en el cultivo de células del hámster chino bajo la acción de la 5-bromodesoxiuridina y la hidroxilamina. Al tratar el *I* cromosoma con 5-bromodesoxiuridina, todas las rupturas se localizaron en una porción pequeña cerca del centrómero, y en el *II* cromosoma se observaron muchas rupturas particularmente en las partes de los telómeros. Por otra parte, las rupturas inducidas

Fig. 286. Granos de maíz coloreados y manchados. En el grano derecho se distingue la acción del gene mutante

por la hidroxilamina, se distribuyeron en el medio del brazo largo del *I* cromosoma y en la región del centrómero del *II* cromosoma. Los autores estiman que esto está relacionado con la concentración irregular de los pares de bases en el cromosoma. Puede suponerse, que la 5-bromodisoxiuridina manifiesta un mayor tropismo para los segmentos del cromosoma que sean más ricas en pares de bases adenina—timina y la hidroxilamina para las porciones que contengan principalmente guanina—citosina.

Se manifiesta una especificidad regional extraordinaria en la aparición de mutaciones letales en el cromosoma X de *Drosophila* bajo la acción del formaldehído. En este caso, en algunos segmentos del cromosoma se desarrolla el proceso lento de aparición de las mutaciones, probablemente como resultado de las afecciones potenciales agrupadas regionalmente.

El proceso mutacional espontáneo que fundamentalmente constituye, por su origen, la mutagénesis química, da algunos ejemplos excelentes del control génico de las mutaciones, los cuales probablemente en un futuro ayudarán a la solución del problema de la obtención dirigida de mutaciones. Una prueba eficiente de mutaciones inducidas por parte del genotipo es el caso estudiado en el maíz por M. Rhoades. El alelo dominante A_1 da un color púrpura a distintas partes de la planta, y el alelo a_1, un color verde. Ambos suelen caracterizarse por una baja mutabilidad. Sin embargo, en las plantas que tienen el gene especial *Dt*, el gene a_1 se transforma por mutación en gene A_1, con tal frecuencia que las hojas verdes resultan listadas de púrpura y los granos salpicados de manchas purpúreas (fig. 286). Para el gene *Dt* no se ha encontrado otra influencia en el desarrollo de la planta excepto la modificación de la frecuencia de la mutación del alelo a_1 en A_1, sin que cambie la mutabilidad del alelo A_1 bajo la influencia del gene *Dt*. Los alelos A_1 y a_1 están localizados en el tercer cromosoma del maíz, y el gene *Dt* (*Dotted*) se encuentra en el noveno cromosoma. El grado en que influye el gene *Dt* sobre la mutabilidad del alelo a_1 crece a medida que aumenta el número de genes *Dt* en la célula. Esta relación entre la frecuencia de mutación del alelo a_1 en la planta del maíz y la cantidad de genes *Dt* en las células de endosperma triploide puede ser expresada de la siguiente forma

Genotipo de acuerdo con la cantidad de genes *Dt*	Número de mutaciones por un grano
dt dt dt	0,0
dt dt Dt	7,2
dt DtδDt	22,2
Dt Dt Dt	121,9

Hemos observado un cuadro excepcional de control génico específico de mutación de un locus determinado. La estrecha relación con una determinada fase del desarrollo y una tendencia muy marcada de la acción mutagénica indica que la misma está relacionada con manifestaciones funcionales del gene.

Otro ejemplo es el referido al control génico sobre las rupturas de cromosomas, descubierto por B. McClintock en el caso del sistema *Ds—Ac*. El sistema de disociación-activación (*Dissociation—Activation*) fue descubierto en el brazo corto del noveno cromosoma del maíz y originado después de pasar el ciclo ruptura—reunión, lo que produjo complejas aberraciones en esta región. Los genes *Ac* y *Ds*, por lo visto, son inserciones heterocromáticas, las cuales fueron trasladadas al brazo del noveno cromosoma. La presencia de *Ac* y *Ds*, en un núcleo hace aumentar vertiginosamente el número de rupturas de cromosomas. Estas últimas surgen en el locus *Ds* con la consiguiente pérdida del material situado más distalmente, que *Ds* o con el ulterior sometimiento de estas rupturas a las aberraciones.

El propósito de la mutagénesis dirigida consiste en la obtención precisamente del fenotipo necesario. En 1966 Ch. Auerbach analizó en forma detallada las cuestiones de la especificidad mutagénica. Considera que hay poca probabilidad de que algún día podamos obtener con ayuda de los mutágenos el 100% de los mutantes del fenotipo deseado. Sin embargo, en la práctica es importante alcanzar tal situación cuando en un experimento aparezca una cantidad de mutaciones requeridas que permita satisfacer las necesidades de la transformación dirigida del fenotipo.

En la actualidad no resulta muy difícil introducir, en la estructura del aparato genético, variaciones sencillas y lo suficientemente específicas con relación a un nucleótido determinado o un par de éstos. Son bien conocidos los mecanismos moleculares de acción de mutágenos génicos, cosa la que, precisamente, contribuye a la elaboración de métodos nuevos de transformación de grupos de código de DNA. Los primeros ejemplos de este tipo fueron establecidos para la acción del ácido nitroso, la hidroxilamina y algunos otros mutágenos sobre el DNA de fagos y bacterias. En estos casos, se trata de una reacción completamente definida entre el material genético y el mutágeno químico. En esta reacción claramente se manifiesta la dependencia entre el carácter de variación genética y la especificidad del mutágeno.

Para la elaboración de todo este problema, el análisis de los fenómenos de transformación, transducción, recombinación y el

estudio de la naturaleza de la herencia episómica tiene vital importancia. Sin embargo, por muy alto que valoramos las perspectivas que nos ofrece la regulación puramente química sobre la mutagénesis, es necesario tomar en cuenta, que el nivel molecular es sólo una parte de la compleja organización biológica de la herencia. Más aún, podemos decir que precisamente el análisis de la organización biológica de la herencia asegurará el éxito en el desarrollo del problema de las mutaciones dirigidas.

Como es conocido, la estructura del DNA es muy monótona, la cantidad de unidades del código es limitada y por esto prácticamente no hay genes, que estén constituidos, aunque sea solamente en lo fundamental, por nucleótidos iguales. Es por esto que el estudio de la especificidad de la reacción química entre el mutágeno y al menos una de las bases nitrogenadas, ofrece muy poco en la resolución del problema de la mutación dirigida. En este caso, en las etapas iniciales del proceso mutacional, o sea en el estadio anterior a la formación de la variación potencial, cuando ocurre la interacción del mutágeno con el cromosoma, parece que no tiene mucho sentido buscar medios de inducir las mutaciones dirigidas. Pero la fina estructura del gene no puede ser reducida al nivel de una simple secuencia de nucleótidos. Los genes son sistemas físicoquímicos que tienen una organización biológica. De lo contrario, producto de la falta de especificidad de las bases nitrogenadas, las cuales garantizan que se registra la información genética, estaríamos imposibilitados de dirigir en forma específica el proceso mutacional. Todo lo dicho demuestra, que la tendencia central del problema de la mutación dirigida es la búsqueda de nuevos tipos de mutágenos, que sean capaces de reaccionar en forma específica tanto con genes individuales como con sistemas estructurales específicos. Paralelamente a esta cuestión, es necesario prestar atención al control sobre la etapa de variaciones potenciales y su transformación en verdaderas mutaciones. Como se deduce de los datos anteriormente expuestos, las variaciones potenciales tienen velocidades diferentes de desarrollo en las mutaciones. Es difícil imaginarnos, que esto dependa solamente de las diferencias en el carácter de las reacciones químicas iniciales. Más bien podemos suponer, que este fenómeno está relacionado con la particularidad estructural de gene variado, así como con su estado funcional en el momento de producirse la afección por el mutágeno. Esta suposición puede comprobarse de forma experimental. Si ella resulta justa, entonces este será otro camino más que permitirá las acciones específicas destinadas a modificar la velocidad de desarrollo de la variación potencial en segmentos estrictamente determinados del cromosoma. Puesto que la fijación de las variaciones potenciales producidas por la acción de las sustancias alquilantes, ocurre en la fase de síntesis del DNA, y dada la condición de que los investigadores dispongan del método que permita detener o estimular el desarrollo de la variación potencial en cualquier etapa de este

proceso, será posible regular, en una población lo suficientemente sincrónica, el rendimiento de las mutaciones, admitiendo la formación de las mutaciones solamente en los segmentos estudiados del cromosoma, valiéndose del bien conocido asincronismo en la duplicación de determinados cromosomas o sus sectores.

La transformación de la variación potencial en mutación aún no significa la aparición del fenotipo mutante. Los estadios secundarios del proceso mutacional actúan como una especie de factores «sita» y determinan cuál de las mutaciones potenciales se realizarán. Además de estos datos hay muchos otros que indican que estas «sita» intervienen de una forma muy específica. Demostremos esto en dos ejemplos de la genética de las células somáticas. En 1960 P. Nowell y D. Hungerford (1961) descubrieron que en las células de médula ósea y en la sangre de los enfermos con leucemia mielógena crónica, existe un defecto específico del aparato genético: la deleción en el brazo largo del cromosoma 21. Las investigaciones posteriores confirmaron completamente este hecho. El origen de este clon maligno es el resultado de una mutación cromosómica. No hay razón para dudar que las rupturas en el cromosoma 21 ocurren espontáneamente no sólo en las células mieloideas, sino también en cualquier otro tejido, por ejemplo en el linfoide o incluso en el eritropoyético. Sin embargo, en ninguno de éstos, surgen los clones malignos. Esto indica directamente, que la obtención del fenotipo mutante, se determina por las condiciones específicas de la diferenciación tisular y se controla, por lo visto, por el conjunto de genes funcionales.

Por ejemplo, en algunos casos, las dificultades metódicas pueden crear la imagen de especificidad. W. Szybalski y otros (1964) investigaron en un cultivo de células humanas las mutaciones a la resistencia contra 8-asaguanina, 8-asaguanosina y 8-asahipoxantina, y reversiones de la resistencia a la sensibilidad con relación a la 8-asaguanina. Fueron utilizados los siguientes mutágenos: compuestos alquilantes incluso el análogo nitroso de la iperita, trietilenmelamina; análogos de las bases (6-mercaptopurina, 5-bromodesoxiuridina, 2-aminopurina, 5-fluodesoxiuridina y otros); sustancias cancerígenas, rayos X y otros tipos de rayos, radiación ultravioleta, hidroxilamina, colquicina, proflavina, sincavit y estrofantina. Es bien conocido, que la mayoría de estos agentes son altamente efectivos en los que se respecta a la inducción de aberraciones cromosómicas en diferentes objetos, incluso en los cultivos de células humanas. W. Szybalski pone de especial manifiesto, que estos factores son mutágenos para bacterias y fagos. Sin embargo, para el modelo de cultivo escogido de células humanas, incluso usando un método muy exacto de recuento de mutaciones con ayuda de medios selectivos, no se logró descubrir ningún efecto mutagénico. En algunos casos se observa incluso un resultado contrario. La cantidad de mutaciones en los cultivos tratados, a veces era menor que en el control. Este fenómeno com

pletamente misterioso podría ser un pretexto para hablar de una especificidad de mutación insólita, sin embargo, en 1968 E. Chu y Melling encontraron un efecto mutagénico de una serie de mutágenos, que provocan mutaciones génicas en las células de los mamíferos en el cultivo del tejido.

El mismo mutágeno puede ejercer gran influencia en las etapas secundarias del proceso mutacional. Ch. Auerbach (1965) examina en calidad de ejemplo la especificidad de la acción del mutágeno alquilante óxido de diepoxibutileno sobre 2 loci de la *Neurospora*. El análisis de las reversiones de la auxotrofia en los loci de adenina y de inositol demostró, que el óxido de diepoxibutileno diferenció claramente estos loci. Las mutaciones se indujeron primordialmente en el locus de adenina.

Los rayos ultravioletas indujeron un número de mutaciones algo mayor en el locus de inositol que en el de adenina. Es poco probable que las causas de la especificidad mutagénica en este caso estén relacionadas con las características del óxido de diepoxibutileno en sí. Por esto, surgió la suposición de que éste facilita el desarrollo de las reacciones que conllevan al comienzo de la síntesis de la adenina y estorba las reacciones que conducen al inicio de la síntesis del inositol. A partir de esta hipótesis era de esperar que el preparado debía facilitar la aparición de las mutaciones de adenina independientemente de que fueran ellas inducidas por su propia acción o por cualquier otro mutágeno. Fue estudiado el origen de las mutaciones bajo la acción de la luz ultravioleta en las células, las cuales inmediatamente después de la irradiación o unos momentos antes del tratamiento se sometían a la acción del óxido de diepoxibutileno. En las células tratadas con el óxido de diepoxibutileno, la aplicación posterior de rayos ultravioletas produjo una cantidad mucho mayor de reversiones de adenina que de inositol. En el locus de inositol se observó una simple aditividad en la acción de dos mutágenos, mientras que en el locus de adenina se notó una «superinteracción».

En la resolución del problema de las mutaciones dirigidas la cuestión sobre la naturaleza de la mutagénesis prolongada jugará un papel bastante importante. El fenómeno de la especificidad y el carácter dirigido de mutación puede surgir si la variación potencial multiplicada de un gene en cuestión se realizará en forma estable a través de mutaciones que dan un determinado estado alelomórfico de este gene. Es muy probable, que en esto consista parte del enigma de la mutación dirigida que se presenta en la mutagénesis espontánea y en algunos casos de especificidad al inducir las mutaciones. La regulación de la mutagénesis prolongada en el aspecto de la realización específica de las variaciones potenciales, en un futuro, indiscutiblemente será uno de los apartados del problema sobre la obtención de las mutaciones dirigidas.

La tarea principal en las investigaciones dentro del nuevo campo de la teoría de las mutaciones (mutagénesis prolongada) es el

descúbrimiento de los fundamentos genéticos, celulares e intramoleculares y moleculares de este complejo fenómeno, y en primer lugar de la naturaleza física y química de la afección potencial inicial de los cromosomas. Con el descubrimiento del fenómeno de la mutagénesis prolongada aparece una serie de nuevos problemas relacionados con la esencia de las mutaciones y cuestiones de defensa contra las afecciones genéticas. El material expuesto muestra que en nuestros días se divisa un complejo de nuevas nociones, cuyo desarrollo jugará un importante rol en la solución del problema de la mutación dirigida.

SUSTITUCIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS. Las pruebas más convincentes sobre la tesis de que la clase principal de mutaciones son *missense*, es decir, el cambio de algunos de los nucleótidos en los codones, están dadas en los trabajos con mutaciones del virus del mosaico del tabaco (VMT), para las hemoglobinas humanas, las mutaciones de *E. coli* y en otros casos.

La información genética del VMT está codificada en las moléculas de RNA. La proteína de la envoltura del VMT contiene 158 residuos de aminoácidos. Wittman (1960—1965), H. Fraenkel-Conrat y sus colaboradores (1962—1969) estudiaron más de 100 mutaciones en el VMT. Para 46 mutaciones fue localizada su acción en la estructura primaria de la proteína. Fue demostrado, que ocurrían mutaciones puntuales en forma de la sustitución de algunos de los nucleótidos. Los codones variados determinaron la inserción de aminoácidos erróneos (tabla 25).

En 1957 V. Ingram demostró, que la mutación puntual de la anemia de los eritrocitos faleiformes en el hombre en forma de

Tabla 25

Sustitución de las bases en los codones del VMT provocadas por HNO_2 y la incorporación de bases erróneas en polipéptidos de la proteína de la envoltura del virus

Codón normal y su aminoácido	Codón mutante y aminoácido erróneo	Sustitución de bases	Codón normal y su aminoácido	Codón mutante y aminoácido erróneo	Sustitución de bases
CCC Prolina	*CCC* Serina	*C → U*	Acido glutámico *ACA* Treonina	Glicina *AUA* Isoleucina	*C → G*
CCC Prolina	*CUC* Leucina	*A → G*	*UCU* Serina	*UUU* Fenilalanina	*C → U*
AUU Isoleucina	*GUU* Valina	*A → G*	*UCG* Serina	*UUG* Leucina	*A → G*
AUU Isoleucina	*AUG* Metionina	*C → U*	*GAC* Acido aspártico	*GCC* Glicina	
CUU Leucina	*UUU* Fenilalonina	*A → G*			
GAA	*GGA*				

sustitución de una base en el codón, produce la inserción, en la cadena polipeptídica β de hemoglobina, de la valina en lugar del ácido glutámico, característico de la cadena normal. Posteriormente, para la hemoglobina humana fueron encontrados más de 70 casos de acción de mutaciones puntuales que provocan la sustitución de algunos de los aminoácidos (tabla 26).

Tabla 26

Ejemplos de sustitución de algunos aminoácidos en cadenas de polipéptidos de la hemoglobina humana bajo la acción de mutaciones puntuales en forma de cambio de bases determinadas en los codones

Hemoglobina	Cadena y posición de la sustitución	Codón y aminoácido normal	Codón mutante y aminoácido erróneo	Sustitución de bases
N Seattle	β61	*AAA* Lisina	*GAA* Acido glutámico	*A → G*
D Los Angeles— —Panjab	β121	*GAA* Acido glutámico	*CAA* Glutamina	*G → C*
Norfolk	α57	*GGU* Glicina	*GAU* Acido aspártico	*G → A*
M Saskatoon— —Radon	β63	*CAU* Histidina	*UAU* Tirosina	*C → U*
G Philadelphia	α68	*AAU* Asparragina	*AAA* Lisina	*U → A*
SC Harlem	β6	*GAA* Acido glutámico	*GUA* Valina	*A → U*
Saskatoon	β22	*GAA* Acido glutámico	*AAA* Lisina	*G → A*
G Georgetown— —Scrirey	β7	*GAA* Acido glutámico	*GGA* Glicina	*A → G*

La evolución experimental del codón a base de sustituciones de nucleótidos fue lograda por C. Yanofsky y otros, para el caso de péptidos de triptofansintetasa en *E. coli*. Así pues, para el codón *GGA*, que codifica el aminoácido glicina situado en la posición 210 en el péptido de la proteína A de triptofansintetasa, se obtuvo el árbol genealógico completo.

En los descendientes mutantes del codón *GGA* se indujeron sustituciones de algunos nucleótidos bajo la acción de diferentes mutágenos y rayos ultravioletas en forma consecutiva (fig. 287). Como resultado, se desarrolló la evolución de la proteína *A* de triptofansintetasa, conjuntamente con la evolución de los codones.

En el ejemplo de las mutaciones de sustitución (*missense*), se puede observar la importancia del código genético para la actividad vital y la evolución de los organismos vivientes. En este caso, la herencia discreta se ha llevado hasta el valor funcional de cada nucleótido. El fenómeno de las mutaciones también ha encontrado explicación al nivel molecular, lo que permite un

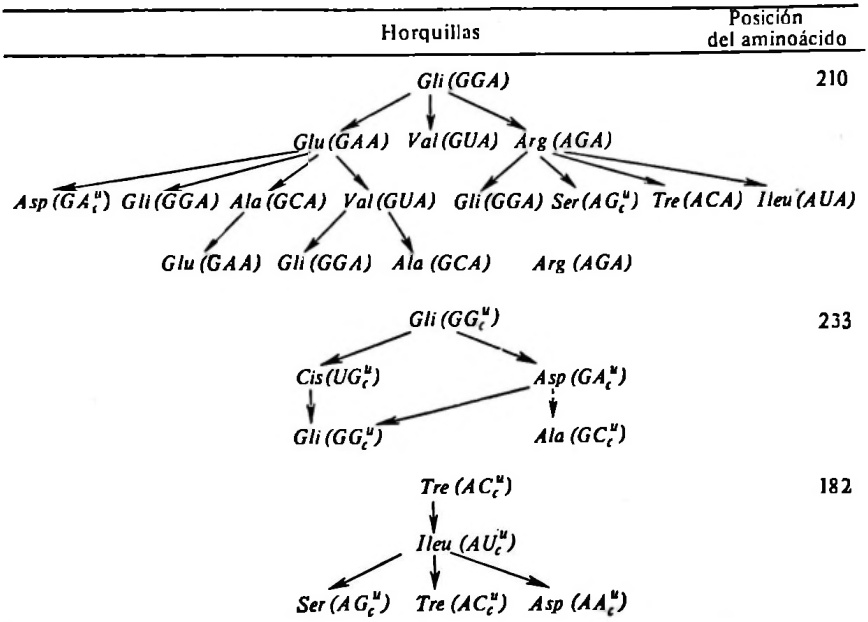


Fig. 287. Evolución experimental del codón *GGA* a base de sustituciones de nucleótidos y evolución de la proteína triptofansintetasa que se conjuga con ésta

nuevo enfoque en el análisis de los problemas de evolución y selección de los organismos.

Preguntas para discutir

20-1. ¿Qué transformaciones químicas dentro de los genes (segmentos de la molécula de DNA) conducen a la aparición de mutaciones génicas?

20-2. ¿Cómo se caracterizan los dos estados fundamentales de las moléculas de DNA, en los cuales se originan mutaciones génicas?

20-3. ¿Qué significado tiene el conocimiento de los tautómeros de las bases nitrogenadas para la comprensión de las bases moleculares de las mutaciones?

20-4. ¿En qué reacción de desaminación bajo la influencia del ácido nitroso, el par adenina—timina se sustituye por el par citosina—guanina?

20-5. ¿Qué variaciones provocan los compuestos alquilantes en la molécula de DNA de doble espiral? ¿Qué tipo de transición y transversión se originan?

20-6. ¿En qué consiste el principio de la acción de los análogos de las bases en el momento de la autorreproducción de la molé-

cula de DNA? ¿Cuál es el proceso de la aparición de la transición al incluirse 5-bromuracilo (BU)?

20-7. ¿Cuáles son los tres mecanismos moleculares fundamentales del origen de las mutaciones?

20-8. ¿Qué es lo más característico al influir con los rayos ultravioletas sobre la molécula de DNA? ¿Qué se puede decir sobre las etapas de reparación de afecciones provocadas por la acción de los rayos ultravioletas sobre la molécula de DNA?

20-9. ¿Cuáles son las tres clases de afecciones primarias de DNA que surgen mediante la acción de mutágenos químicos sobre el cromosoma?

20-10. Describa la secuencia de reacciones químicas que se llevan a cabo en la célula y en los cromosomas bajo la acción de los compuestos alquilantes.

20-11. ¿Existen transformaciones metabólicas de los mutágenos en la célula previas a su reacción con los cromosomas?

20-12. ¿Qué son los enlaces de entrecruzamientos en las moléculas de DNA? ¿Cuál es su papel en el origen de las mutaciones?

20-13. Describa los momentos fundamentales de la inducción de las mutaciones al actuar los compuestos alquilantes.

20-14. ¿Qué quiere decir fotorreactivación y reparación en oscuridad?

20-15. ¿Existe reparación en oscuridad en las células de los mamíferos?

20-16. ¿Cuál es la dificultad fundamental que existe en el proceso de resolución del problema de la obtención de mutaciones dirigidas al utilizarse el conocido conjunto de mutágenos químicos?

20-17. ¿En qué límites oscilan las diferencias en las frecuencias de mutación espontánea según los sites en el cistrón *A* y el *B* de la región *r*II de fago *T4*?

20-18. Exponga los ejemplos fundamentales de la especificidad en la mutagénesis epontánea e inducida.

20-19. ¿Cuáles son dos enfoques principales que actualmente se adoptan en la solución del problema de la mutación dirigida?

20-20. ¿Qué hechos demostraron el valor de las sustituciones de algunos de los nucleótidos en los codones al estudiarse las mutaciones puntuales en el virus del mosaico del tabaco?

20-21. ¿En qué forma contribuyó el estudio de las diferentes formas de hemoglobina humana para la comprensión de la naturaleza de las mutaciones puntuales?

20-22. ¿En qué trabajos se logró realizar la evolución experimental de codones y proteínas A de triptofansintetasa de *E. coli* al inducirse las mutaciones puntuales con mutágenos químicos y rayos ultravioletas?